Aus dem Bundesgesundheitsamt
Max von Pettenkofer-Institut, Abteilung für Veterinärmedizin
Berlin
Leitender Direktor: Professor Dr.M.Zunker

VERSUCHE ZUR BRUCELLA-TYPENDIFFERENZIERUNG MITTELS BACTERIOPHAGEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER DISSOZIATIONSFORMEN DER BRUCELLEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung
des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin

vorgelegt von
Gudrun Steidten
Tierärztin
aus Leipzig

Berlin 1965
Journal-Nr. 498

Aus dem Bundesgesundheitsamt
Max von Pettenkofer-Institut, Abteilung für Veterinärmedizin
Berlin
Leitender Direktor: Professor Dr.M.Zunker

VERSUCHE ZUR BRUCELLA-TYPENDIFFERENZIERUNG MITTELS BACTERIOPHAGEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER DISSOZIATIONSFORMEN DER BRUCELLEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung
des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin

vorgelegt von
Gudrun Steidten
Tierärztin
aus Leipzig

Berlin 1965
Journal-Nr. 498

Gedruckt mit Genehmigung der Vet. med. Fakultät
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof.Dr.J.Boch
Referent: Prof. Dr. H. Hartwigk
Correferent: Prof. Dr.M.Lerche

Tag der Promotion: 24.II.65

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einleitung	1
B.	Literaturübersicht	2
C.	Eigene Versuche	13
	I. Untersuchungsmaterial	13
	II. Untersuchungstechnik	14
	a) Phagen	14
	b) Dissoziation der Brucellastämme	17
	III. Die Phagenempfindlichkeit der drei Brucellatypen	19
	IV. Die Eigenschaften der geprüften Stämme im Vergleich zur Wirkung der einzelnen Phagen	21
	V. Herkunft und Phagenempfindlichkeit	25
	VI. Eigenschaften und Phagenempfindlichkeit von einigen mit den üblichem Methoden nicht differenzierbaren Brucella-Stämmen	28
	VII. Die Phagentätigkeit bei R-und I-Formen von Brucella-Stämmen	31
	VIII. Untersuchung einiger Brucellastämme auf ihre epidemiologische Bedeutung für eine Institutsinfektion einzelner Instituts-angehöriger	33
D.	Besprechung der Ergebnisse	37
E.	Schlußfolgerung	43
F.	Zusammenfassung	44
G.	Literaturverzeichnis	45

A. Einleitung

Die Unterscheidung der Brucella-Typen kann mitunter Schwierigkeiten bereiten. Diese Schwierigkeiten werden u.a. dadurch deutlich, daß zahlreiche Methoden empfohlen worden sind, die der Typendifferenzierung dienen sollen.
Üblicherweise werden Kohlendioxydbedarf, Wachstumshemmung durch verschiedene Farbstoffe wie Thionin und Fuchsin, Urease-Aktivität, H_2S-Bildung und Agglutination durch monospezifische Seren untersucht. Damit ist die Zahl der Methoden keineswegs erschöpft. Bei den zur Prüfung verwendeten Eigenschaften handelt es sich aber nicht um für den Typ unveränderliche Merkmale. Häufig überschneiden sich die Merkmale der Brucella-Typen, so daß öfter intermediäre oder atypische Stämme beschrieben werden.
In letzter Zeit ist versucht worden, Brucellaphagen zur Typisierung von Brucellastämmen heranzuziehen. Die Verwendung von Brucellaphagen würde viel Zeit einsparen und die Typisierung sehr vereinfachen.
Außerdem könnte man mittels Brucellaphagen epidemiologische Untersuchungen besser durchführen als bisher, wie das bei anderen Bakteriengruppen üblich ist.

B. Literaturübersicht

Im Jahre 1933 fand Liu (19) in Hamburg bei einem an Maltafieber erkrankten Patienten einen Phagen, der Brucella-melitensis-Stämme angriff. Diesen Phagen hatte er aus dem Stuhl und Harn des Kranken isoliert. Gleichzeitig konnte er, ebenfalls aus Stuhl und Harn, bei einem an Morbus Bang erkrankten Kinde einen Phagen isolieren, für dessen Wirkung Brucella-abortus-Stämme empfindlich waren. Angaben über die Weiterzüchtung dieser Phagen unterblieben. Diesen Untersuchungen waren andere Versuche zur Isolierung von Brucella-Phagen von anderen Autoren vorausgegangen, die aber sämtlich negativ verlaufen waren.

Die ersten Angaben über Versuche zur Isolierung von Brucella-Phagen finden sich bei Sanderson (44). Er untersuchte im Jahre 1925 Mekonium-Filtrat von sechs abortierten Kälberfoeten auf das Vorhandensein von Brucellabakteriophagen. Die Ergebnisse waren negativ. Ebenfalls negativ verliefen die Versuche Gwatkins (9), welcher fünf Faecesproben von Brucella infizierten Rindern und fünf von nicht infizierten, sowie neun Milchproben von infizierten und vier von nicht infizierten Rindern auf Brucellaphagen prüfte. Hassan (1o) versuchte 1933 aus 17 Tierarten Brucellaphagen zu isolieren und andere Bakteriophagen an Brucellen zu adaptieren. Beides gelang ihm nicht. Den Versuch, aus Brucellakulturen Phagen zu erhalten, unternahm 1949 Smith (46). Er prüfte 48 Stämme von Brucella abortus, 1o Stämme von Brucella melitensis und 7 Stämme von Brucella suis erfolglos auf Brucellaphagen. Mitschel, Newman und Eisenstark (24) fanden bei ihren Untersuchungen von Brucellakulturen keine Phagen. wie die folgenden Literaturangaben zeigen, wurden die bisher isolierten Brucellaphagen hauptsächlich in Polen und Rußland gefunden. Sergienko, Schultz und Natowitsch beschrieben 194o die Isolierung eines Phagen vom Stamm Nr.98 in der Ukraine. Dieser Phage erwies sich nach einer Reihe von Passagen als aktiv gegen alle untersuchten Brucella-Stämme (45).

Einen Phagen, dessen Wirkung sehr schwach war und dessen Vermehrung kaum gelang, konnten 1950 P i c k e t t und N e l s o n (43) in Los Angeles aus den Filtraten von Bouillonkulturen und Abschwemmungen von alten Kulturen auf festen Nährböden erhalten. 1959 gelang van D r i m m e l e n (6) die Isolation eines Phagen, der auf dem Brucella-abortus-Stamm 19 gewachsen war. 1960 isolierte er drei weitere Phagenstämme, nämlich F1, F2 und F3. Die meisten Phagenstämme isolierten D r o z e w k i n a (7) und P a r n a s (34,27). D r o z e w k i n a (7) isolierte ihre 62 Phagen teils aus alten Sammlungskulturen und zum Teil aus Abwasser. P a r n a s (27,34) gewann die von ihm isolierten Phagenstämme aus Sammlungskulturen. Es waren etwa 40 Stämme. Russische Forscher konnten weitere Phagen isolieren. M a m a c a s v i l i berichtet von 18 Phagenstämmen, O s t r o w s k a j a gab keine Zahl bekannt. P o p h a d z e und A b a s i d z e fanden den Phagen TB (zit. D r o z e w k i n a 7). 1963 berichteten P a r n a s und B u r d z y (36) von einem aus einer Maus isolierten Phagen 12 m. P a r n a s (34) erwähnte die Phagen 7 I ,18 II, 21 II, 202 XV, 112 IX, 219 XVI, 222 XVII und S. Eine vollständige Übersicht über die zur Zeit verfügbaren Brucellaphagen gibt es nicht.

Die Methoden zur Gewinnung dieser Phagen wurden, wie folgt, beschrieben: L i u (19) gab Aufschwemmungen von Harn-und Kotproben, die von Menschen und Tieren stammten, sowie Aufschwemmungen von Stalljauche zu Bouillonkulturen von Brucella-abortus und Brucella-melitensis-Stämmen. Er filtrierte nach 1,2 oder 3 Tagen Brutschrankaufenthalt diese Gemische durch Seitzfilter Nr.3. Von diesen Filtraten gab er Tropfen auf Agarplatten mit Brucellarasen. Nach 1-2 tägiger Bebrütung wurde abgelesen.

P i c k e t t und N e l s o n (43) schwemmten alte Brucellakulturen von festen Nährböden ab und filtrierten durch ein Corning UF Filter. In ähnlicher Weise filtrierten sie alte Bouillonkulturen. Van D r i m m e l e n (6) zentrifugierte 72 Stunden alte, flüssige phagenhaltige Kulturen 75 Min. bei 3000 U/min. Den klaren Überstand stellte er für 60 Minuten in ein Wasserbad bei 60° C. Diese Phagensuspension bewahrte er bei + 4° C auf und verdünnte sie zum Gebrauch

zehnfach. D r o z e w k i n a (7) beimpfte Martinagar vom pH=6,9 mit Brucellakulturen, in denen sie Phagen vermutete. Diese Nährböden wurden 48 Stunden bei 37°C bebrütet und anschließend bei Raumtemperatur gehalten. Zeigten sich bei der täglichen Kontrolle im Brucellarasen stecknadelkopfgroße Plaques, so wurden die Testflaschen mit 8-1oml Martinbouillon aufgefüllt und wieder einige Tage bebrütet. Diese getrübten, phagenhaltigen Bouillonkulturen wurden durch angefeuchtete Camberlandfilter Nr.1,2 oder 5 filtriert. Phagen aus Blut, Urin und Cerebrospinalflüssigkeit gewann die Autorin auf folgende Weise: zu 5o ml Martinbouillon vom pH=7,2 gab sie 1 ml Blut, Urin oder Cerebrospinalflüssigkeit und o,6 bis o,8 ml 4-5 stündige Brucellabouillonkultur, die aus dem gleichen Organismus stammte. Das Ganze wurde 14-16 Stunden bebrütet und danach filtriert. Organstückchen wurden für 4 Stunden in den Kühlschrank gelegt, ehe sie zur Phagengewinnung in die Martinbouillon gebracht wurden.

Die Phagengewinnung aus Abwasser gelang auf folgende Weise: zu 9oo ml Abwasser wurden 1oo ml konzentrierte Bouillon und 1o ml 24 Stunden alte Brucellakultur gegeben. Das Gemisch wurde 3o Tage bei 3o-33°C bebrütet. In regelmäßigen Abständen wurden Proben entnommen und durch ein Camberlandfilter S 5 filtriert.

Schon nach 6 Tagen Bebrütung waren Phagen vorhanden. P a r n a s, F e l t y m o w s k y und B u l i k o w s k i (4o) gaben kleine Agarstücke mit alter Kultur zu 6 Stunden alten Brucella-brucei-Kulturen vom Stamm 19 in Huddleson's Nährmedium. Nach 48 Stunden Brutschrank-und 24 Stunden Kühlschrankaufenthalt wurden einige Tropfen entnommen und erneut zu 6 Stunden alter Kultur vom Stamm 19 gegeben. Das wurde 1o x wiederholt. Anschließend wurde filtriert und Chloroform zugefügt. Geprüft wurde mit Standardstämmen auf Braun's Nährboden. P a r n a s (3o,34) benutzte auch Leberbouillon vom pH=7,2, der Serum zugesetzt war, zur Phagengewinnung.

Bei der Isolierung aus alten Schrägagarkulturen wurden kleine Agarstücke in 18 Stunden alte Leberbouillonkulturen der Stämme Brucella abortus Nr.12 oder 19 gebracht. Nachdem diese Kulturen 24 Stunden

bebrütet worden waren, gab er von den Kulturen 2,5 ml auf 5 ml neue, 18 Stunden alte Kulturen der Stämme.
Dieses wurde einige Male wiederholt. Nach der Prüfung auf die Anwesenheit von Phagen, wurde die phagenhaltige Leberbouillon durch Berkefeld-und Camberlandfilter 3 L 5 filtriert. Der pH-Wert wurde auf 7,6 eingestellt.
P a r n a s und B u r d z y (36) isolierten aus einer mit Brucella bovis infizierten Albinomaus den Phagen 12 m, indem sie aus den Organen des Tieres Brucella-Kolonien auf festen Nährböden züchteten. Diese wurden abgespült und durch Berkefeldfilter filtriert. Für die Weiterzüchtung der isolierten Brucellaphagen wurden folgende Methoden beschrieben: die Fortzüchtung eines Brucellaphagen aus Rußland gelang durch einfache Übertragung von Plaques in Albimibouillonkultur vom Stamm R 19. Der Phage blieb in seiner Aktivität beständig, wenn die Bebrütung 24 Stunden bei 37°C erfolgte. Der pH-Wert mußte zwischen 6 und 8 liegen. Nach Lyophilisation und 2o-monatiger Lagerzeit bei + 4°C war er wieder so aktiv wie vorher (Mc D u f f, J o n e s, W i l s o n 2o).
S t i n e b r i n g und B r a u n (48) konnten den in Rostov am Don praparierten Phagen 3 ebenfalls gut weiterzüchten. Schwierigkeiten ergaben sich nur, wenn der Phagenzusatz zum Zuchtstamm am Ende des logarithmischen wachstums der Brucellen erfolgte, oder wenn die zugesetzte Phagenmenge zu gering war.
P a r n a s (32) wies darauf hin, wie wichtig es für die Züchtung und Vermehrung der Brucellaphagen ist, daß der dazu benutzte Brucellastamm in der S-Form vorliegt. P a r n a s und B u r d z y (35) beobachteten, daß die Anwendung der S-R, S^R, R^S oder der R-Form eine Senkung des Phagentiters hervorruft oder gar die Phagen ganz aus der Brucella-Kultur verschwinden läßt. Die Züchtung gleichmäßig aktiver Phagen gelang P a r n a s (27) mit dem Brucella-abortus-Stamm Nr.12. 0,6 ml einer 6 Stunden alten Kultur des Stammes Nr.12 wurde mit o,3 ml Phagenkultur 3o Minuten bei 37°C im Wasserbad geschüttelt. Dieses Gemisch wurde anschließend zu 25 ml Martinbouillon vom pH-7,2 gegeben. Das Ganze wurde für 6 Stunden in dem Kühlschrank aufbewahrt und dann 18 Stunden bei 37°C

bebrütet. Anschließend wurde 6o Min. bei 6ooo U/min. zentrifugiert, die Hälfte des Überstandes abgegossen und der Rest filtriert. So wurde eine gleichmäßige Phagenkonzentration erhalten. Ebenso gleichmäßig blieb die Phagenkonzentration bei der von P a r n a s und G r z e g o r z e w s k a - L e w a n d o w s k a (41) angegebenen Methode. 0,3 ml Bakteriophagensuspension und o,15 ml einer 6 stündigen Bouillonkultur des Indikatorstammes werden zu 12,5 ml Bouillon gegeben und im wasserbad bei 37°C 15 Minuten geschüttelt. Danach wird das Gemisch für 5 Stunden in den Kühlschrank gestellt und anschließend 16 Stunden bei 37°C bebrütet. Um herauszufinden, welches Mengenverhältnis zwischen Brucellen und Bakteriophagen am günstigsten für die Phagenzüchtung war, führte P a r n a s (3o) folgenden Versuch durch: er gab von einer 6 Stunden alten Brucella-Bouillonkultur je o,2 ml bis 1,5 ml bis 4 ml zu je 5o ml Bouillon vom pH-7,2. Zu den verschiedenen Gemischen wurden verschiedene Mengen der Bakteriophagensuspension gegeben, und zwar o,2 bis 1,6 ml. Nach gründlichem Mischen wurden die Kolben für 6 Stunden in den Kühlschrank gestellt. Danach wurden sie 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Nachdem die einzelnen Gemische filtriert und geprüft worden waren, ließ sich leicht feststellen, welches Mischungsverhältnis die besten Ergebnisse für die Phagenzüchtung zeigte. P a r n a s (3o) fand einen Zusatz von 1,2 bis 1,5 ml Phagensuspension zu o,6 bis 1 ml Brucellakultur in 5e ml Bouillen am günstigsten.

Die Weiterzüchtung von Brucellaphagen gelang auch auf folgende Weise: von dem zur Phagenvermehrung benutzten Brucellastamm wurde eine Schrägagarkultur angelegt. Nachdem diese 18 Stunden bei 37°C bebrütet wurde, überimpfte er eine Öse dieser Kultur in ein Bouillonröhrchen. Von dieser Kultur wurde nach 6 Stunden dauernder Bebrütung 1 ml in 5o ml Bouillon übertragen und 1 ml Phagensuspension zugefügt. Nachdem gut geschüttelt worden war, wurde das Gemisch für 6 Stunden in den Kühlschrank gestellt und anschließend 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Zur Stärkung schwacher Bakteriophagen kann man 5-6 dieser Passagen vornehmen.

Das Aussehen der Brucellaphagen beschrieben O s t r o w s k a j a und S o l o w j e w (26). Sie sahen im Elektronenmikroskop 4o-6o mμ große, kugelförmige Gebilde. Einige dieser Phagen waren geschwänzt. Einen aus Polen stammenden Phagen beschrieben B r i n l a y - M o r g a n und Mitarbeiter (3o) als hexagonales 65 mμ großes Körperchen,

das an einer Ecke einen 14 mμ langen Schwanz trug. Parnas, Feltynowsky und Bulikowski (4o,27) konnten bei den von ihnen untersuchten Phagen keine Schwänze erkennen. Die Größe des Phagen TB gaben sie mit 6o-8o mμ an.

Bei der 2 Jahre langen Beobachtung eines Phagen stellte Drozevkina (7) fest, daß die Brucellaphagen eine hohe Widerstandskraft gegen chemische und physikalische Einflüsse besitzen. pH-Werte von 5,5 bis 8,3 wurden vertragen.

Die Phagenvermehrung begann 12 Stunden nach dem Zusammenbringen von Brucellen und Phagen. Ähnliche Eigenschaften stellte Ostrowskaja (25) fest, die gleichfalls einen Phagen während zweier Jahre beobachtete. Der beobachtete Phage hielt sich auch bei Zimmertemperatur. Er war gegen die Einwirkung von Formalindämpfen bis zu 5 Stunden beständig. 5%iges Phenol vernichtete ihn erst nach 24 Stunden, während 1o%iges Phenol nur 5 Minuten einzuwirken brauchte, um ihn abzutöten.

Den Beginn der Phagenadsorption an die Bakterienzellen stellten Ostrowskaja und Solowjew (26) 6 Stunden nach dem Phagenzusatz zur Brucellenkultur fest. Die Phagolyse trat erst nach 9-12stündigem Bebrüten auf.

Die Wirkung des Phagen TB auf Brucellen beobachtete Parnas (27) im Elektronenmikroskop. Die Phagen umschlossen in Massen die Bakterienzellen und setzten sich an deren Oberfläche fest. Der vorher glatte Phagenumriß wurde ungleichmäßig. Phagenkörperchen wurden sichtbar. Das Protoplasma der Brucellen veränderte sich, es wurde klar und durchscheinend, seine Granula wurden undeutlich. Die Zellenmembran der Bakterien wurde zerstört. Jones, Mc Duff und Wilson (14) bemerkten, daß blaugraue Brucellakolonien durch die Anhäufung von Phagen weiß wurden. Die Verfärbung entstand, sobald die Bakteriophagenenzyme auf die Zellwände wirkten. Je schneller die Adsorption der Phagen an die Brucellen erfolgte, desto größer wurden die Plaques (Mc Duff, Jones und Wilson 2o).

Drei Arten von Phagenlöchern beobachtete Jablonski (12) an vier Brucellaphagen. Runde Erosionen mit scharfen Rändern und einer Größe von o,1 bis 3 mm bezeichnete er mit rm (rapid minute).

Die zweite Form tu (turbid plaques), trat nach 16 bis 2o Stunden auf. Dabei handelte es sich um ungleichmäßige 4-6 mm große Erosionen. Die dritte Art, durch kleine runde Erosionen charakteristisch, wurde " rapid lysis" genannt. Die gleichen Bezeichnungen wendeten P a r n a s und Mitarbeiter (34) bei der Untersuchung von russischen, polnischen und südafrikanischen Brucellaphagen an. Die Phagenwirkung auf außerhalb von Körperzellen liegende oder durch Phagocyten aufgenommene Brucellen beobachteten K e s s e l , A r o n s o n und B r a u n (16). Dabei bemerkten sie, daß die Phagen die Vermehrung der Brucellen behinderten. Die unter dem Einfluß von Penicillin mukoid gewordenen Brucellakolonien wurden von Phagen in gleicher Weise, wie S-Formen lysiert (K e s s e l und B r a u n 15).
P a r n a s und K o t l i n s k a (42) stellten fest, daß streptomycinresistente Stämme gegen die Phagenwirkung empfindlicher waren als Originalstämme.
Über die Empfindlichkeit der drei Brucellatypen gegen die Phagen wurde Folgendes berichtet: der Phage TB und mehrere polnische Phagen lysierten mit wenigen Ausnahmen nur Brucella-abortus-Stämme (P a r n a s 4o,28,29,34). Andere Phagen waren polyvalent.
Der vom P a r n a s und B u r d z y (36) aus einer Maus isolierte Phage 12 m lysierte den Stamm Brucella bovis Nr.12 sehr stark; gegen Brucella-melitensis-und Brucella-suis-Stämme war er unwirksam. Bei der Prüfung von 5 polnischen, 5 russischen und 1o südafrikanischen Phagen stellten P a r n a s, B u r d z y und M u n t e r (39) fest, daß diese Phagen den Stamm Brucella bovis Nr.12 stark lysierten. Der von D r o z e w k i n a als polyvalent bezeichnete Phage P erwies sich allerdings bei diesen Versuchen nicht als polyvalent.
D r o z e w k i n a (7) fand bei dem Phagen TB eine Spezifität für Brucella-abortus-Stämme, aber die 62 von ihr selbst isolierten Phagen bezeichnete sie als polyvalent.
Von der W H O (5o) wurde ebenfalls festgestellt, daß der Phage TB Brucella-abortus-Stämme angriff. S t i n e b r i n g und B r a u n (48) bemerkten, daß der Phage 3, den sie aus Rostov am Don erhalten hatten, nur S-und I-Formen von Brucella-abortus-Stämmen angriff.
Die gleiche Beobachtung machten B r i n l a y - M o r g a n ,

Kay und Bradley (3) und Meyer (21). 8 Phagenstämme lysierten sämtliche in der Sammlung Wundt's (52) vorhandenen Brucella-abortus-Stämme.

213 Brucella-melitensis-Stämme, die aus verschiedenen Ländern stammten, prüften Parnas und Burdzy (37) mit 10 Phagen. Nur 69 davon waren gegen die Phagenwirkung empfindlich. Brucella-melitensis-Stämme von Mensch, Schaf und Ziege zeigten sich phagenresistent. Vom Rind stammende Brucella-melitensis-Stämme dagegen waren phagensensibel.

Die Brucella-melitensis-Stämme aus der Sammlung Wundt's (52) waren unterschiedlich gegen die Phagen empfindlich. Auch die von Parnas (29) geprüften Brucella-melitensis-Stämme zeigten eine unterschiedliche Phagenempfindlichkeit.

Dimitriu, Cerbu und Vasilesco stellten fest, daß 77% der von ihnen mit dem Phagen TB geprüften Melitensis-Stämme auf dessen Wirkung ansprachen (zit. Drozewkina 7). 24 von 33 mit einem russischen Phagen geprüften Brucella-melitensis-Stämmen wurden lysiert.(Brinlay-Morgan, Kay und Bradlay 3). Die Brucella-suis-Stämme werden allgemein als sehr phagenresistent beschrieben.(Drozewkina 7, Brinlay-Morgan, Kay und Bradlay 3, Parnas 34, Parnas, Feltinowsky und Bulikowski 40, Wundt 52).

Wie aus verschiedenen Arbeiten hervorgeht, werden durch die Phagenwirkung die Brucellen zur Dissoziation angeregt (Jablonski 12, Stinebring und Braun 48, Parnas 27,29,34, Parnas, Feltinowsky und Bulikowski 40). Da die Brucellaphagen im Verlauf der Brucellose, besonders während der Rekonvaleszenz im Organismus vorhanden sind, erschweren sie das Anlegen von Brucellakulturen. Sie behindern die Isolation der Stämme oder verändern und beeinflussen die Brucellakolonien so, daß sie dissoziieren oder atypisch wachsen. Die Brucellen werden in ihrer biochemischen Aktivität geschwächt (Drozewkina 7). Diese Feststellungen wurden durch Parnas und Burdzy 36)

bestätigt, als sie aus einer Maus den Phagen 12 m isolierten. Die aus Leber und Milz gezüchteten Brucellakolonien wuchsen in S, R- und I-Formen.

Im neuester Zeit sind Versuche unternommen worden, zur Ergänzung der unten beschriebenen bisher gebräuchlichen Differenzierungsmethoden für Brucellen den Phagentest heranzuziehen.

Am gebräuchlichsten für die Differenzierung der drei Brucellatypen sind 1. die Bestimmung der Herkunft, 2. die Prüfung der Antigenstruktur in monospezifischen Antimelitensis-und Antiabortus-Seren, 3. die Prüfung auf Farbstoffresistenz und biochemische Eigenschaften, d.h. man untersucht das Wachstum der fraglichen Stämme auf Thionin-und Fuchsinagar und prüft die H_2S-Bildung. Außerdem werden 4. die kulturellen Eigenschaften wie CO_2-Abhängigkeit und die Neigung zu Dissoziation geprüft. Die Pathogenität für Meerschweinchen wird ebenfalls zur Differenzierung herangezogen. (U l b r i c h und w e i n h o l d 49). Zur genaueren Bestimmung von zwei Laborstämmen zogen G o d g l ü c k, U l b r i c h und w e l l m a n n (8) noch die Prüfung des Wachstums auf Eiernährböden und die Feststellung der Ureaseaktivität heran. w u n d t (51) bestätigte, daß die von H u d d l e s o n ausschließlich verwendeten Farbstoffe der Anilin Division New York am besten für die Typendifferenzierung geeignet sind. M e y e r und M o r g a n (23) stellten fest, daß die biochemische Methode nach H u d d l e s o n und die Agglutination in monospezifischen Seren zur Typendifferenzierung der Brucellen nicht ausreichen. Sie prüften auch noch den Aminosäure-und Kohlehydratstoffwechsel fraglicher Brucellastämme und deren Empfindlichkeit gegen den Phagen 3. So gelang es ihnen, eine Anzahl Stämme als Brucella abortus zu bestimmen (M e y e r 21).

Das Expertenkomitee der W o r l d H e a l t h O r g a n i z a t i o n untersuchte, außer der Farbstoffresistens, H_2S-Bildung und der Antigenfraktionen, das Verhalten der drei Brucellatypen gegenüber L-Alanin, D-Alanin, L-Asparagin, L-Glutaminsäure, L-Arabinose, D-Galaktose, D-Ribose, D-Xylose, L-Arginin, D-L-Citrullin, D-L-Ornithin und L-Lysin.(WHO 50) Zur Ergänzung der aufgezählten Methoden wurde noch die Prüfung mit dem Phagen TB vorgeschlagen, da er als spezifisch

für Brucella-abortus-Stämme angesehen wurde.
M e y e r und M o r g a n (23,21) prüften Brucella-Stämme unklaren Typs mit dem Phagen 3; während neben den herkömmlichen Differenzierungsmethoden U l b r i c h und W e i n h o l d (49) den Agargeltest und die Prüfung der unbekannten Brucellastämme mit den Phagen F1 und F25 anwendeten. Die Schwierigkeit der Typendifferenzierung bei Brucella-Stämmen mit den konventionellen Methoden wurden von S t a b l e f o r t h und J o n e s im International Bulletin of Bacteriology Volume 13 (47) erwähnt. Die Prüfung der zu untersuchenden Stämme mit dem Phagen TB wurde dort ebenfalls empfohlen, allerdings mit der Einschränkung, daß es mit ihm nur möglich ist, Brucella-abortus-Stämme von den anderen Stammtypen abzugrenzen. Bei der dort beschriebenen Untersuchung wurde nur mit einer RTD (Routine Test Dilution) geprüft.
Van D r i m m e l e n (4,5) benutzte ebenfalls den Phagentest als unterstützende Methode bei der Differenzierung von Brucellen.
J o n e s (13), L a z u g a und R e n o u x (18) halten eine Typisierung von Brucellen mittels Phagen ebenfalls für möglich, weil sich von 23 Phagenstämmen 8 als spezifisch für einige Brucellastämme erwiesen. L a z u g a (17) nahm an, daß man für Brucellen ein Lysotypiesystem aufstellen könne. Er prüfte eine Anzahl von Brucellastämmen aus verschiedenen Ländern mittels 4 Phagen.
P a r n a s (36,31,33) sah in dem Phagentest eine vollkommene Ergänzung der herkömmlichen Differenzierungsmethoden.
Die verschiedenen Wuchsformen der dissoziierten Brucellen beschrieb H e n r y. Er zählte fünf Koloniearten auf: I-S(smoth), II-intermediate bedeutet den ersten Schritt zur R-Form, III-R(rough). Diese Kolonien sind frei von Schleim, glanzlos und trocken, IV-S^R (smoth-rough) die so veränderten Brucellen agglutinieren spontan in physiologischer Kochsalzlösung. V RB(mucoid). Diese Kolonien sind walnußbraun gefärbt, manchmal haben sie etwas Schleim. Für Versuchstiere sind sie nicht mehr virulent. Die Dissoziation wurde durch Beimpfen von Leberbouillon, die Leberstückchen enthielt, erreicht.

Durch die Färbung der Kolonien mit Kristallviolettlösung 1:2ooo 15 Sekunden lang, wurde eine bessere Unterscheidung der Brucella-Kolonien möglich. (H u d d l e s o n et al. 11). B r a u n (1) erhielt dissoziierte Brucellen aus einer Bouillonkultur vom pH-Wert-6,8. In normaler Bouillon dissoziierten die Brucellen nach 1o Tagen (B r a u n 2).
Die Unterscheidung der verschiedenen Dissoziationsformen gelang H e n r y mittels der Agglutination in Trypaflavin - 1:1o ooo und physiologischer Kochsalzlösung. R-Formen agglutinierten in beiden Flüssigkeiten (H u d d l e s o n and others, 11). Für P a r n a s (27) reichte diese Methode zur genauen Unterscheidung der verschiedenen Kolonietypen nicht aus. Er empfahl die Thermoagglutination nach Burnet.
Unterschiede in der Phagenempfindlichkeit von S-und I-Formen der gleichen Stämme stellten J o n e s, Mc D u f f und W i l s o n (14) fest.
Während bei den S-Formen konfluierende Lysis auftrat, erschienen auf I-Kulturen nur einige isolierte Plaques. Von S t i n e b r i n g und B r a u n (48) geprüfte R-Formen verschiedener Brucella-abortus-Stämme waren gegen die Wirkung der Phagen unempfindlich. Auch P a r n a s (28,29) bemerkte, daß R-Stämme resistent gegen die Phagenlyse waren. Deshalb wiesen P a r n a s und B u r d z y (35) darauf hin, daß für die Prüfung von Brucellastämmen mit Phagen nur die reine S-Form verwendet werden darf, weil es bei dissoziierten Brucellen zu abweichenden Ergebnissen kommen kann.

C. Eigene Versuche

I. Untersuchungsmaterial

Für meine Versuche habe ich 11 Brucella-Phagenstämme verwendet. Die Phagen tragen die Bezeichnungen:

F1, F25, Tb, 1o,24, 371, 3, 6,7,45, 212.

Die Phagenstämme F1 und F25 wurden uns in dankenswerter Weise von Herrn Prof. Dr. van D r i m m e l e n aus Onderstepoort bei Pretoria (Südafrika) überlassen. Beide Phagen wurden dem Max-von-Pettenkofer-Institut in lyophilisierter Form übersandt und hier aufbewahrt. Nach van D r i m m e l e n haben diese Phagen folgende Wirkung: das Filtrat von F1 ergibt auf Brucella abortus im Bakterienrasen große, bei Brucella suis dagegen gelegentlich kleine Flecken. Der Stamm F25 verursacht auf Rasen beider Brucella-Typen sowohl im Umfang als auch in der Größe verschiedene Flecke. Brucella-melitensis-Kulturen werden von beiden Phagenfiltraten nur schwach angegriffen.

Die übrigen 9 Phagen Tb bis 212 standen in flüssiger Form zur Verfügung. Sie wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. P a r n a s (Polen) übersandt.

P a r n a s gibt die Titer der Phagen, die er nach der A d a m 'schen Methode ermittelt hat, wie folgt an:

3 und 6 : $1o^{-4}$, 7 : $1o^{-6}$, Tb und 24 : $1o^{-8}$, 45 :2 x $1o^{-9}$, 1o, 212 sowie 371 mit $1o^{-1o}$.

Mit den Phagen wurden 149 Brucella-Stämme aus der Sammlung des Max-von Pettenkofer-Instituts geprüft und zwar:

44 Stämme Brucella abortus
45 " " melitensis
49 " " suis
11 ", deren Zugehörigkeit nach den herkömmlichen Methoden

(Bestimmung der Thionin-Fuchsin-Resistenz, der H_2S-Bildung und der Agglutination in monospezifischen Seren) zu einem der 3 Typen nicht eindeutig bestimmt werden konnte. Die Brucella-stämme wurden bis zur Untersuchung mit den Phagen auf Kartoffel-schrägagar gehalten.

II. Untersuchungstechnik

a) Bakteriophagen

Zur Züchtung und Prüfung der Brucella-Stämme sowie zur Vermehrung der Phagen wurde Albimibouillon und D i f c o -Agar mit dem pH-Wert 7,6 benutzt.
Die Züchtung und Vermehrung der Brucella-Phagen erfolgte nach der im Max-von-Pettenkofer-Institut verwendeten Technik: in 8,o ml der Albimi-Bouillon wurde eine Öse Schrägagarkultur des Stammes Buck 19 gegeben und gut vermischt. Die Bouillon wurde in 1o%iger CO_2- Atmosphäre 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Von den lyophilisierten Phagen wurde eine Suspension hergestellt, in dem die Trockensubstanz in 1 ml Aqua dest. aufgeschwemmt wurde. Danach wurde der Kultur o,1 ml Suspension der Phagen F1 bzw. F25 hinzugefügt und nochmals 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Die P a r n a s 'schen Phagen wurden ebenfalls auf diese Weise auf dem Stamm Buck 19 vermehrt, der sich als besonders geeignet erwiesen hat. Auf dem Stamm 12 gelang die Vermehrung der Phagen nicht so gut. Um brucellafreie Phagensuspensionen zu gewinnen, wurden die Kulturen 75 Minuten bei 3ooo U/min. zentrifugiert. Der Überstand wurde in einem Wasserbad 6o Min. bei 6o°C gehalten. Die so gewonnene klare Flüssigkeit stellte die brucellafreie Phagensuspension dar. Ihre Aufbewahrung erfolgte, gut verschlossen, bei 4°C. Bei der Titration der Phagen und Prüfung der Brucella-Stämme wurde wie folgt vorgegangen: eine Öse Schrägagarkultur vom Abortus-Stamm Buck 19 wurde in 8 ml Bouillon aufgeschwemmt und 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Mit 4 ml der bebrüteten Bouillon wurde eine in Sektoren aufgeteilte

Agarplatte begossen. Nach ca. 2 Min. wurde die überschüssige Kultur abpipettiert. Die Platten wurden zum Trocknen in den Brutschrank gestellt, und danach wurde mit einer 2 mm Öse in die bezeichneten Sektoren ein Tropfen unverdünnte bzw. 10^{-1}, 10^{-2} usw. bis 10^{-6} verdünnte Phagensuspension gebracht. Zur Verdünnung der Phagensuspension fand sterile Bouillon Verwendung, von der auch 1 Tropfen zum Kontrollversuch benutzt wurde. Nachdem die Phagentropfen angetrocknet waren, wurde die Platte nochmals bei 37°C bebrütet und nach 24 Stunden sowie nach 48 Stunden unter dem Plattenmikroskop bei 16facher Vergrößerung abgelesen. Um eine Anreicherung geringwertiger Phagenstämme zu erreichen, wurde der oben beschriebene Vorgang der Vermehrung, notfalls mehrmals, wiederholt.

Zur Prüfung haben die Sammlungsstämme sämtlich in S-Form vorgelegen. Die Prüfung erfolgte in gleicher Weise wie bei dem Stamm Buck 19. Es wurden frische und nicht zu trockene Nährböden verwendet. Es wurde darauf Wert gelegt, daß die Aussaat der zu prüfenden Stämme gleichmäßig war. Da Einzelkolonien eine Beurteilung der Ergebnisse nicht zulassen, war ein gleichmäßiges Auswachsen des Rasens erforderlich. Um die Phagenlyse schriftlich zu fixieren und um eine Erörterung zu ermöglichen, wurden folgende Symbole benutzt:

+ + + +	= 4 =	vollständige Lyse im ganzen Bereich des aufgetragenen Phagentropfens, confluierende Lyse
+ + +	= 3 =	vollständige Lyse in Plaques
+ +	= 2 =	vollständige Lyse "(") u. Spots
+	= 1 =	vollständige Lyse in weniger als 5 Spots
(+ + + +)	= (4) =	wie ++++, jedoch liegen verschieden starke Abstufungen des Bakterienwachstums innerhalb der Lysiszone vor, vom zarten Schleier bis zu stärkerem Wachstum, welches jedoch noch immer wesentlich schwächer ist, als das des umgebenden Rasens.
(+ + +)	= (3) =	wie +++ Die Plaques enthalten alle Abstufungen des Wachstums.

(++) u.(+) = (2) u. (1) = wie ++ und +.
Wachstum aller Stufen in den mehr oder weniger lysierten Bezirken.

\- = negativ, Lysis fehlt.

Die Ränder aller lysierten Zonen erschienen bräunlich, gelblich oder goldähnlich gefärbt. An Stellen solcher Färbungen im Bakterienrasen war Phagentätigkeit vorhanden.
Besonders schwierig war die Beurteilung der hier mit ( ) angegebenen " Opaken Lyse", weil von schwacher Aufhellung bzw. Spuren von Lyse mit Bakterienrasen ( ) bis zur vollständigen Lyse

((+))

mit Bakterienwachstum ((++++)) alle Abstufungen

auftraten.
Die Abbildung 1 zeigt eine normale Lyse zur Erklärung der Beurteilung. Eine möglichst große Gleichmäßigkeit der Ergebnisse war gewährleistet, wenn der Phage F1 in einer Verdünnung von 10^{-2} und der Phage F25 unverdünnt auf dem Buck-19-Stamm- eine confluierende Lysis zeigte. Die übrigen Phagen verhielten sich gegenüber dem Stamm Buck 19 folgendermaßen:

Verdünnung	
0	confluierende Lysis
10^{-1}	vollständige Lysis in Plaques
10^{-2}	" " " Plaques u. Spots
10^{-3} bis 10^{-6}	vollständige Lysis in weniger als 5 Spots.

Mit den eben besprochenen Symbolen bezeichnet, sah die Wirkung der polnischen Phagen auf dem Stamm Buck 19 so aus:

Verdünnung	Lyse
0	++++
10^{-1}	+++
10^{-2}	++
10^{-3}	+
10^{-4}	+
10^{-5}	+
10^{-6}	+

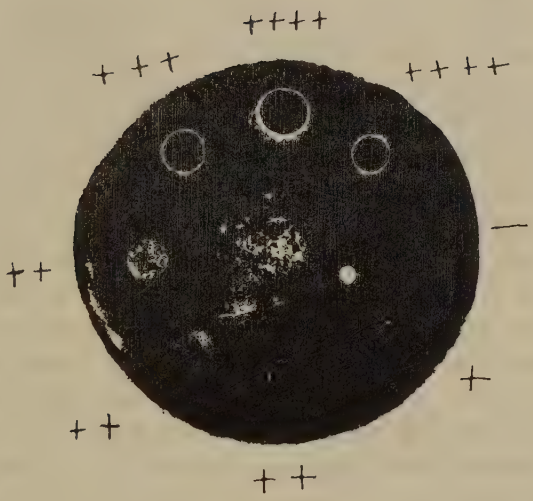


Abbildung 1

b) Dissoziationsformen der Brucella-Stämme

Von 5o Stämmen sollten R-und I-Formen gezüchtet werden. 16 Stämme Brucella abortus, 17 Stämme Brucella melitensis, 13 Stämme von Brucella suis und 4 Stämme, deren Typ mit den üblichen Methoden nicht zu bestimmen war, wurden nach der von H e n r y beschriebenen Methode, in den Versuch genommen. Als Nährböden wurden Leberbouillon mit Leberstückchen und Albimiagar verwendet. Die Agglutination in Trypaflavin - 1: 1o ooo und physiologischer Kochsalzlösung wurden zur genaueren Formbestimmung benutzt, berücksichtigt wurden nur R-und I-Formen, keine Zwischenstufen. Die von den S-Formen angelegten Leberbouillonkulturen wurden 5 Tage bei 37°C bebrütet. Um Einzelkolonien zu erhalten, wurde in folgender Weise verfahren: auf der einen Platte wurde eine Öse der Leberbouillonkultur ausgespatelt, mit dem gleichen Spatel wurden drei andere Nährböden bestrichen. Nach 3-tägigem Bebrüten waren auf der zuletzt bestrichenen Platte ziemlich kleine Einzelkolonien gewachsen. Diese wurden unter dem Plattenmikroskop mit H e n r y 'scher Beleuchtung bei 16-facher Vergrößerung betrachtet. Wenn der betreffende Stamm dissoziiert war und I-oder R-Formen zu erkennen waren, wurde versucht, diese mittels einer Kapillare oder Öse zu isolieren und fraktioniert auf einem neuen Nährboden auszustreichen. Nachdem wieder 3 Tage bebrütet wurde, wurden wieder einzelne I-oder R-Kolonien isoliert. In der H e n r y 'schen Beleuchtung unter dem Plattenmikroskop erschien die S-Form zartgrün, glatt und glänzend; die I-Form gelb und trocken; die R-Form bräunlichgelb und krümelig. Zur besseren Unterscheidung der Dissoziationsformen wurden die Kulturen nach H e n r y mit wässeriger Kristallviolettlösung 1:2ooo angefärbt. Man goß die Farbe an den Rand des Nährbodens und ließ sie vorsichtig über die ganze Fläche laufen, so daß alle Kolonien gut bedeckt waren. Etwa 15 Sekunden ließ man sie einwirken, dann wurde vorsichtig abgegossen. S-Formen sahen blaurot und glänzend aus, die Kolonien waren scharf begrenzt. I-Formen färbten sich kaum an, sie blieben gelb, hatten aber bläuliche Ränder. R-Formen wurden purpurrot gefärbt.

Die Färbung hatte keinen schädlichen Einfluß auf die Brucellen, sodaß sie ohne weiteres weitergezüchtet werden konnten. Durch die Prüfung der isolierten I-oder R-Formen in Trypaflavin-und Kochsalzlösung, wurde festgestellt, ob die Formen rein genug waren, um mit den Phagen geprüft zu werden. I-Formen agglutinierten nur in Trypaflavin, R-Formen in beiden Lösungen.
Die rein gezüchteten Kolonien wurden auf Kartoffelschrägagar übertragen und drei Tage bebrütet. Mit dieser Methode gelang es, aus den 5o angesetzten Stämmen

33 I-und 1o R-Stämme zu züchten.

Es wurden also 11 I-Stämme von Brucella abortus, 11 I-Stämme von Brucella melitensis, 8 I-Stämme von Brucella suis und 3 I-Formen unbestimmbaren Typs mit Phagen getestet.
Von den erhaltenen 1o R-Stämmen waren 3 R-Stämme von Brucella abortus, 5 von Brucella melitensis, 1 R-Stamm von Brucella suis und 1 R-Stamm gehörte zu den Stämmen, deren Typ mit den üblichen Methoden bisher nicht zu bestimmen war.

III. Die Phagenempfindlichkeit der drei Brucellatypen

In diesem Abschnitt soll ohne Beachtung des biochemischen und serologischen Verhaltens der einzelnen Brucellatypen nur ihre Empfindlichkeit in Bezug auf die Wirkung der Phagen beschrieben werden.

Zunächst ist zu bemerken, daß die Typisierung mit Hilfe der üblichen und allgemein als richtig anerkannten biochemischen und serologischen Testverfahren erfolgt ist.

Es fällt bei Betrachtung der Tabelle 1 auf, daß Brucella abortus sehr empfindlich auf die Phagentätigkeit reagiert. Die Phagen F1 und F25 lysierten alle 44 geprüften Brucella-abortus-Stämme- wenn auch in verschiedener Stärke. Der Abortusstamm 96 wurde allerdings nur vom unverdünntem Phagen F1 in sehr geringem Maße angegriffen. Phage F25 wirkte bei diesem Stamm dagegen bis zur Verdünnung 10^{-6}, zeigte aber nur opake Lyse. Ein ähnlich einheitliches Bild der Wirksamkeit der übrigen Phagen lässt sich nicht gewinnen. Der Abortusstamm 19 war gegen sämtliche polnischen Phagen resistent.

Die Phagen 371, 212 und Tb griffen 42 Stämme (95,45%) an. Mit Ausnahme des eben erwähnten Stammes 19 sind es jedoch immer andere Abortusstämme, die sich den einzelnen Phagen gegenüber als resistent erwiesen. So für Phage 371 der Stamm 7, für Phage 212 Stamm 96 und für Phage Tb Stamm 29. Der Phage 1o war bei 41 (93%),die Phagen 45 und 7 bei 39 (88,64%) und Phage 24 bei 38 Stämmen (88,63%) wirksam. Der Phage 6 lysierte 35 Stämme (77,27%); während der Phage 3 bei 22 Stämmen,also nur bei der Hälfte der Stämme seine Wirksamkeit entfaltete.

Dazu ist zu bemerken, daß für diese Phagen das Gleiche gilt, wie das für die Phagen 371,212 und Tb Gesagte; mit Ausnahme von 19 waren es immer andere Stämme, die sich den einzelnen Phagen gegenüber resistent zeigten. Ein besonderes Verhalten zeigte auch gegenüber den polnischen Phagen der Stamm 96, indem er nur von den Phagen 371 und Tb angegriffen wurde.

Abortus Stamm	371	212	TB	10	3	6	45	7	F1	F 25	24
5	4321111	44211111	43211	44332222		3211111	4432211	321	4444432	44444421	44332221
15	4433222	43221111	44433222	44433322		321	4332111	321	4444332	44433222	44321111
30	4322211	43221111	33211	43211	(1)(1)	(3)(2)(1)	4322111	221	4443332	33322211	44332221
2	4332211	43322111	44211111	44333222			3211	21	4444432	44332211	33222211
10	3321111	43211	321				4321111	211	4444442	44432222	43322211
61	3321111	31111111	43211111	33322111		(2)(1)(1)	3211111	4211	4443322	43221111	33222211
71	3221111	43211111	43211111	43211111		(3)(2)(1)	4432111	211	4433221	33211111	43321111
1	4432111	33211111	43211111	43211111				321	4443321	44321111	44332221
21	4332211	43221111	43211111	(3)(2)(1)(1)		221	4432111	111	4443332	44322211	44321111
57	3322211	33211111	32111111	43211111		(3)(2)(1)(1)(1)	(4)(4)(3)(3)(2)(2)	(3)(2)(1)	4443321	43211111	44332221
3	4422111	43211111	43211111	32111		43211111	4432221	321	4443332	43332221	33322221
48	4321111	44211111	32111111	43211111	(1)	3211	4443221	3221111	4433222	43211111	
23	4321111	43211111		43211111					4443321	44321111	43322222
22	4433322	43221111	44322221	44433222	(2)(1)(1)	(4)(3)(2)(1)(1)	4321111	4321111	4443332	44432221	44322111
68	3222111	43211111	43221111	43211111		3221111	4332211	2111	4433221	33211111	43322111
44	4321111	43311111	43211111	44333211		(3)(2)(1)(1)(1)	4432111	2111	4433221	32111111	44333221
7		44321	3211				4432221	2211	4443332	43322111	44432221
120	3321111	44321111	(4)(3)(2)(1)(1)	(3)(2)		(3)(2)(1)	(3)(2)(1)	(1)(1)	4443221	33221111	(2)(2)(1)(1)(1)
39	3322111	32111111	32111111	44432111	32111111		4321111	2111	4443222	33221111	44333221
131	4322211	32111	44333222		111		4321111	2111	4443221	33221111	43321111
70	4321111	33211111	32111111	33221111		2211111	4321111	221	4443322	3211	4321
33	3322111	43211111	32111111	44443222		2111111	4321111	1111	4443322	43322221	44332222
6	3322111	33211111	(4)(3)(2)(1)(1)(1)	(4)(4)(4)(3)(3)(2)	1	3211111	4432111	3211	4433221	43321111	44332221
136	4332211	44332211	43211111	43322222		3211	4443211	3211	4443221	44322111	(2)(2)(1)(1)(1)
66	4332222	44332111	43322211	44332221		3211111	4432111	2111	4443332	44332211	33221111
124	4322111	32211111	43211111	44432111		2111	4332111	2111	4443222	44221111	44332111
49	4432111	43111111	43211111	43211111	4321111	211	4443221	3211	4443321	3331	
14	4332211	33322111	44432222	44433221	1	3211111	4432211	4311	4432111	44321	44332221
126	4322111	43221111	33221111	33322211	(1)	(3)(2)(1)	4432211	3211	4443221	43311111	44332221
67	3221111	32111111	22111111	43311111		4321111	4432221	3211	4433222	33211111	44321111
147	4321111	42111111	43221111	44433222			3321111	3211	4433221	33211111	32111111
19									4(2)1111	42111111	
50	3221111	44211111	43321111	43221111	1111	4321111	4432111	3211	4433221	43321111	
111	3211111	22111111	22111111	44322211		2111	4322111	2111	4433221	32211111	44321111
63	3221111	32111111	22111111			(3)(2)(1)	(3)(2)(2)(2)(1)(1)	(2)(1)(1)	4443322	43221111	43211111
129	(3)(2)(1)(1)(1)(1)	43211111	32111111	43222221		(2)(1)		2111111	4433221	43211111	32211111
134	3221111	43211111	43221111	43322211		2111	4322111		4433221	33211111	43221111
96	2111111		11111						(1)	(4)(3)(3)(2)(2)(1)(1)	
140	(3)(2)(2)(1)(1)	(3)(3)(2)(1)(1)(1)	33211111	43322211	(3)(2)(1)	(4)(3)(2)(2)(1)(1)	4432211	3211111	4433222	43211111	33211111
38	(3)(3)(3)(2)(2)(2)	43321111	22111111	44433211	1	2111111	(4)(2)(1)(1)(1)(1)	(2)(1)(1)	4433222	33331111	(2)(1)(1)
62	(4)(3)(2)(2)(1)(1)(1)	(2)(1)(1)	(2)(1)	(2)(2)(1)(1)(1)		111	(2)(1)(1)		3221111	43221111	(2)(1)(1)
118	3221111	32211111	32211111	32211111		2111	(4)(4)(3)(2)(2)(1)(1)	(2)(1)(1)	4433222	33221111	22211111
142	3322111	22211111	32211111	32211111	11	2111111	2111111	2111	4443222	44211111	43221111
115	3222111	32111111	33211111	44332111	1	2111111	1111111	4421111	4433322	43311111	(2)(2)(2)(1)(1)

Die Tabelle 1 zeigt die Phagenwirkung bei den 44 geprüften Brucella-Abortus-Stämmen

Melitensis Stamm	371	212	TB	10	45	7	F 1	F 25	24
46	3 2 1 1 1 1 1	2 1 1 -	2 1 1 1 1 1	(3)(2)(1)(1)(1)	2 1		(3)(2)(2)(1)	(2)(1)(1)	(2)(1)(1)
16	(2 (1)	(2 (1) (1)							(1) (1)
101	2 1 1	2 1		(2)(1)					
18			(3)(3)(2)(1)	2 1 1					
23		(1) (1)					(4) (4) (3 (2) (2) (1) (1)	(2	
141							(3 (2) (2) (1)	(2 (1)	
149							(3) (2) (2) (1)	(2) (1)	
83							(1) (1) (1) (1)	(1) (1) (1) (1) (1) (1)	
95							(3)	(1)	
107							(1) (1) (1) (1) (1) (1)		
112							(1) (1)		
34							(3) (2)	(3 (1)	(2 (1) (1) (1) (1) (1)
97									
139									
130									
128							(1)		
125									
119									
120									
55							(1) (1) (1) (1) (1) (1) (1)		
75									
51									
103									
99									
98					4 3 2 1 1 1 1 1 1				
144									
135									
137									
143									
42									
47									
40									
37									
35							(1) (1) (1) (1) (1) (1) (1)	(1 (1) (1) (1) (1) (1) (1)	
20							(3) (2) (1)	(3) (2) (1) (1)	
32							(3) (3) (2)		
27									
31							(2) (2) (1)	(1) (1)	
26									
25									
149							(1) (1)		
150									
104									
45							(2)	(1)	
151									

Die Tabelle 2 zeigt die Phagenwirkung bei den 45 geprüften Brucella-melitensis-Stämmen

Suis Stamm	371	212	TB	10	3	6	45	7	F1	F25	24
54	(4)(3)(2)(2)(2)(1) –	(4)(4)(3)(2)(1)(1)(1)	(2)(2)(2)(1)(1)(1)(1) –	(2)(2)(1)(1)(1)(1)(1)	(3)(2)(1)(1) –	(4)(4)(3)(2)(2)(2)(1)	(4)(3)(2)(2)(1)(1)(1)	(3)(2)(1)(1) –	(2)(1)(1)(1)(1)(1)	(3)(2)(1)(1)(1)(1)(1)	(2)(2)(2)(1)(1)(1)
100	(4)(3)(2)(1)(1)(1)	3 2 1 1 1 –	4 4 3 2 1 1 1						(3)(2)(1) –	3 3 2 1 – – –	(3)(2)(1)(1)(1)(1)
58	(3)(2)(2)(1)(1)(1)(1)	(2)(1)(1)(1)(1)	1 1 1 1						(3)(3)	(4)(4)(4)(2)(2)(2)(2)	2 1 1 1
28									(3)(2)(1)	(3)(2)(1)	
11	(2)(1)								(1)	(4)(3)(2)(2)(1)(1)(1)	
94	(3)(4)(1)(1)									3 2 2 1 1 1 1	
84	(2)(1)		(2)(2)(1)						(1)	(4)(3)(3)(2)(2)(1)(1)	
80	1	1 1	2 1 1 1 1						(1)	(4)(3)(2)(2)(2)(1)(1)	
91	3 2 1 1 1 1 1		1 1							4 3 2 1 1 1 1	
52	(2)(1)(1)(1)		(1)(1)(1)						(1)	(4)(3)(2)(2)(2)(1)(1)	
93	(2)(1)(1)		1 1						(1)	(4)(3)(3)(2)(1)(1)(1)	
76	(2)(1)									3 3 2 1 1 1	
73	(2)(1)									3 2 1 1	
12	(3)(2)(1)									(3)(2)(2)(1)(1)(1)(1)	
4	3 2			1 1					(1)	(4)(3)(2)(2)(2)(1)(1)(1)	
87	(2)								(3)	4 4 3 2 1 1 1	
78	(2)									(4)(3)(2)(1)(1)(1)(1)	
56	2 1 1									4 3	
53	(2)(1)(1)		1 1						(2)	(4)(3)(2)(2)(1)(1)(1)	
90	(1)		1 1 1							4 3 2 1 1 1 1	
108										3 2 1 1	
41									(1)(1)(1)(1)(1)(1)(1)	3 2 1 1	
43									(1)	(4)(3)(3)(2)(1)(1)	
81										(3)(2)(1)(1)	
83									(1)	(4)(3)(2)(1)(1)(1)	
85			1 1							(3)(2)(2)(1)(1)(1)(1)	
86									(1)	(3)(3)(1)(1)	
92											
77										(3)(2)(1)(1)(1)	
59											
60											
64											
113											
116											
117										(4)(3)(2)	
121										(3)(3)(1)	
122											
123											
127											
132											
138											
139			(1)(1)							3 2 2 1 1 –	
36	4 3 2 1 1		(2)(1)(1)	(2)(1)(1)					(4)(2)(1)	4 3 2 2 2 1	
79											
148											
146											
17											
13											
109	(3)(2)(1)(1)									(3)(2)(1)	

Die Tabelle 3 zeigt die Phagenwirkung bei den 49 geprüften Brucella-suis-Stämmen

T a b e l l e 2 zeigt die Phagensensibilität der 45 geprüften Stämme vom Typ Brucella melitensis.
Die Phagen 371, 1o und 24 griffen nur 3 (6,66%) der geprüften Stämme an.
Phage 212 wirkte nur bei 4 (8,88%). Tb und 45 bei 2 (4,44%) und 7 nur bei einem der geprüften Stämme (2,22%). Völlig unwirksam waren die Phagen 3 und 6. Meistens war die durch die polnischen Phagen hervorgerufene Lyse opak.
Es ist auffallend, daß Melitensis-Stamm 46 von 8 der 11 Phagen angegriffen wurde. Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß die Phagen F1 und F25 bei einer größeren Anzahl von Melitensis-Stämmen wirkung zeigten; nämlich der Phage F1 war bei den von ihm angegriffenen 17 Stämmen (37,77%) meist nur bis zu den Verdünnungen $1o^{-2}$ oder $1o^{-3}$ wirksam. Stets war die von ihm verursachte Lyse unvollständig, also opak. F25 rief bei den 11 Stämmen (24,44%), bei denen er wirkte, ebenfalls nur opake Lyse hervor.

T a b e l l e 3 zeigt die Phagenempfindlichkeit der 49 untersuchten Brucella-suis-Stämme. Der Phage 371 griff 21 Stämme (42,o8%) an. Meist erschöpfte sich seine Wirksamkeit bei einer Verdünnung von $1o^{-3}$ bis $1o^{-5}$. Die Phagen 212 und 24 griffen 3 (6,25%) der Stämme unterschiedlich stark an.
Phage Tb lysierte 13 Stämme (27,37%), am häufigsten bis zur Verdünnung $1o^{-2}$. Gegen die Phagen 3,6,45 und 7 erwies sich nur je 1 Stamm als sensibel (Stamm Suis 54).
Phage F1 wirkte bei 17 Stämmen (33,33%) und zwar meist nur unverdünnt. Am stärksten war die Aktivität des Phagen F25,der 33 Stämme (67,35%) angriff.
Fast alle empfindlichen Brucella-suis-Stämme wurden mit opaker Lyse angegriffen.Der schon erwähnte Stamm Suis 54 wurde von allen Phagen opak lysiert.

IV. Die Eigenschaften der geprüften Stämme im Vergleich zur Wirkung der einzelnen Phagen

In der Tabelle 4 wird eine Übersicht über die biochemischen und serologischen Eigenschaften sowie die Phagenempfindlichkeit der untersuchten Stämme gegeben. Es sollte festgestellt werden, ob zwischen den biochemischen und serologischen Eigenschaften und der Phagentätigkeit Zusammenhänge deutlich werden. Weil sämtliche Stämme, die geprüft wurden, auch ohne CO_2 Zuführung wuchsen, wurde in der Tabelle diese Spalte weggelassen.
Die 44 Brucella-abortus-Stämme konnten nach ihren Eigenschaften in sieben Gruppen eingeteilt werden. Die erste Gruppe umfaßte 13 Stämme, die auf Thionin-und Fuchsinagar wuchsen. Sie bildeten H_2S und agglutinierten in Abortus-Serum. Bei diesen 13 Stämmen waren die Phagen F1, F25, 371, 212 und Tb wirksam.
Die Phagen 1o,45 und 24 blieben je einmal wirkungslos. Dreimal blieben die Phagen 7 und 6 ohne Wirkung und siebenmal griff Phage 3 nicht an.
Bei den Stämmen der zweiten Gruppe, die nur aus zwei Stämmen bestand, die sich genauso verhielten wie die Stämme der ersten Gruppe, aber außer in Abortus-Serum auch in Melitensis-Serum agglutiniertem, griffen die Phagen F1 und F25 an. Je einmal blieben die Phagen 371,212,Tb, 1o,45,24 und 6 unwirksam. Die Phagen 7 und 3 hatten bei beiden Stämmen keine Wirkung.
Die dritte Gruppe war die größte der sieben Gruppen und bestand aus 2o Stämmen. Diese Stämme wuchsen auf Thionin-und Fuchsinagar und bildeten kein H_2S. Sie agglutinierten in Abortus-Serum; alle wurden sie von den Phagen F1, F25, 212, Tb und 1o angegriffen.
Bei diesen Stämmen blieben je einmal die Phagen 371 und 7 ohne Wirkung, zweimal griff der Phage 24 nicht an, und dreimal war der Phage 45 unwirksam. Der Phage 6 blieb fünfmal wirkungslos, und der Phage 3 sogar elfmal.

Zur vierten Gruppe gehörten nur zwei Stämme. Sie wuchsen auf Thionin-und Fuchsinagar, bildeten kein H_2S und agglutinierten nur in Melitensis-Serum. Bei ihnen waren die Phagen F1, F25, 371, 18, 7, 24, 6 und 3 wirksam. Je einmal blieben bei dieser Gruppe die Phagen 212, Tb und 45 ohne Wirkung.

Zur fünften Gruppe gehörten 5 Stämme, die durch Thionin in ihrem Wachstum gehemmt wurden. Sie wuchsen also nur auf Fuchsinagar. H_2S bildeten sie nicht. Sie agglutinierten in Abortus-Serum. Je einmal blieben bei ihnen die Phagen 7, 24 und 3 ohne Wirkung, während F1,F25, 371,212, Tb, 1o, 45 und 6 angriffen.

Die sechste Gruppe bestand aus einem Stamm, der durch Thionin gehemmt wurde. Er wuchs auf Fuchsinagar, bildete H_2S und agglutinierte in Abortus-Serum. Nur der Phage 3 blieb bei ihm wirkungslos; alle anderen Phagen griffen ihn an.

Die siebente und letzte Gruppe bestand ebenfalls nur aus einem Stamm, der sich verhielt wie der eben beschriebene, aber außerdem noch in Melitensis-Serum agglutinierte. Er wurde von allen Phagem angegriffen.

Da die sieben Gruppen meist recht klein waren bzw. überhaupt nur aus einem Stamm bestanden, konnte die gelegentlich auftretende Phagenresistenz nicht als typisch bezeichnet werden. Die ohnehin nur schwach angreifenden Phagen 3 und 6 wirkten bei der Gesamtzahl der Stämme so unterschiedlich, daß aus ihrer Wirksamkeit auf die Stämme der sieben Gruppen keine Schlüsse in Bezug auf die biochemischen und serologischen Eigenschaften der Brucella-abortus-Stämme gezogen werden konnten. Für die sieben anderen polnischen Phagen, die zwar recht aktiv waren, konnten ebenfalls keine besonderen Beziehungen zu den Stämmen der einzelnen Gruppen gefunden werden. Die Phagen F1 und F25 waren bei allen Stämmen der 7 Gruppen wirksam.

Teil 2 der Tabelle 4 zeigt, daß sich die 45 geprüften Brucella-melitensis-Stämme in drei Gruppen einteilen ließen. Die erste bestand aus 7 Stämmen, die auf Thionin-und Fuchsinagar wuchsen, H_2S bildeten und in Melitensis-Serum agglutinierten. Je zweimal wirkten bei ihnen die Phagen F1 und 1o. Je einmal wurden die Phagen F25 und Tb wirksam.
Die zweite Gruppe umfaßte 36 Stämme, die auf Thionin-und Fuchsinagar wuchsen, kein H_2S bildeten und in Melitensis-Serum agglutinierten. Dreizehnmal war der Phage F1 in dieser Gruppe wirksam. F25 griff zehn dieser Stämme an, der Phage 7 lysierte sieben Stämme. Die Phagen 371,212 und 24 riefen je dreimal Lyse hervor, und die Phagen Tb und 1o je einmal.
Die dritte Gruppe war die kleinste. Sie bestand nur aus zwei Stämmen, die sich wie die Stämme der zweiten Gruppe verhielten, aber außerdem noch in Abortus-Serum agglutinierten. Nur bei einem dieser Stämme war als einziger Phage F1 wirksam.
Da die erste und die dritte dieser Stammgruppen im Verhältnis zur zweiten recht klein waren, und Brucella-melitensis-Stämme im allgemeinen recht unempfindlich für Phagenwirkungen waren, ließen sich keine Beziehungen zwischen Phagenempfindlichkeit und biochemischem und serologischem Verhalten nachweisen.

Die im dritten Abschnitt der T a b e l l e 4 verzeichneten Eigenschaften der Brucella-suis-Stämme lassen erkennen, daß diese Stämme in 5 Gruppen einzuteilen waren.
Die erste Gruppe enthielt 24 Stämme, die auf Thionin-und Fuchsinagar wuchsen, H_2S bildeten und in Abortus-Serum agglutinierten. Der Phage F1 war bei zwölf von ihnen wirksam. F25 griff sogar 21 von ihnen an. Der Phage 371 wirkte bei 16 von diesen Stämmen.

Tb griff acht Stämme dieser Gruppe an, 1o wirkte nur bei vier von diesen Stämmen.Die Phagen 45,7,24, 6 und 3 zeigten sich nur je einmal wirksam.

Die zweite Gruppe bestand aus sieben Stämmen,die sich in der gleichen Weise verhielten wie die eben beschriebenen der ersten Gruppe, aber zusätzlich noch in Melitensis-Serum agglutinierten. Alle sieben Stämme dieser Gruppe wurden vom Phagen F25 lysiert. F1, 371 und Tb griffen zwei von ihnen an, 212 war nur bei einem wirksam.

Über die dritte Gruppe der Brucella-suis-Stämme war folgendes zu bemerken: sie umfaßte 14 Stämme, die auf Thionin-und Fuchsinagar wuchsen. Sie bildeten kein H_2S und agglutinierten in Abortus-Serum. Je dreimal wirkten bei ihnen die Phagen F1,371 und Tb. F25 war in dieser Gruppe viermal wirksam, 212 nur zweimal. Der Phage 24 griff nur einen dieser Stämme an.

Die vierte Gruppe bestand aus zwei Stämmen. Sie wuchsen nur auf Thioninagar, Fuchsin hemmte ihr Wachstum. Sie agglutinierten in Abortus-Serum, H_2S bildeten sie nicht. Bei ihnen wirkten je einmal die Phagen F25 und 371.

Die fünfte Gruppe, die ebenfalls nur aus zwei Stämmen bestand,wuchs auf Thionin-und Fuchsinagar und agglutinierte in Abortus-und Melitensis-Serum. H_2S bildeten diese Stämme nicht. Keiner der Phagen griff bei diesen beiden Stämmen an.

Für die fünf Gruppen der Brucella-suis-Stämme gilt das Gleiche, was bei den vorher besprochenen Gruppen der Brucella-abortus-und Brucella-melitensis-Stämme gesagt wurde.

Die in der ersten, größten Gruppe verhältnismäßig starke Aktivität des Phagen F25 läßt keine Rückschlüsse auf besondere Phagenempfindlichkeit dieser Gruppe zu,denn die anderen Phagen wirkten in dieser Gruppe bei einer wesentlich geringeren Anzahl von Stämmen. Vergleiche mit den anderen Gruppen der Brucella-suis-Stämme waren nicht möglich,da diese im Verhältnis zur ersten Gruppe zu klein waren. Zusammenhänge zwischen biochemischem und serologischem Verhalten und Phagenwirkung ließen sich auch hier nicht finden.

	Typ	Thionin	Fuchsin	H_2S	Abortus	Melitensis	F 1		F 25		371		212		TB		10		45		7		24		6		3	
I	1	+	+	+	+	–	13 +		13 +		13 +		13 +		13 +		12 +	1–	12 +	1 –	10 +	3 –	12 +	1 –	10 +	3 –	6 +	7–
	2	+	+	+	+	+	2 +		2+		1 +	1–	1 –	1 –	1 +	1–	1 +	1 –	2 +	1 –		2 –	1 +	1 –	1 +	1 –		2–
	3	+	+	–	+	+	20 +		20 +		19+	1 –	20+		20+	1 –	20+		17 +	3 –	19 +	1 –	18 +	2 –	15 +	5 –	9 +	11–
	4	+	+	–	–	+	2 +		2 +		2 +		1+	1 –	1+	1–	2+		1 +	1 –	2 +		2 +		2 +		2 +	
	5	–	+	–	+	–	5+		5+		5+		5+		5+		5+		5+		4+	1 –	4+	1–	5+		4+	1–
	6	–	+	+	+	–	1+		1+		1+		1+		1+		1+		1+		1 +		1 +		1 +			1–
	7	–	+	+	+	+	1+		1+		1+		1+		1+		1+		1+		1 +		1+		1+		1+	
	Brucmilitensis Bruc. Abortus																											
II	1	+	+	+	–	+	2 +	5 –	1 +	6–		7 –		7 –	1 +	6 –	2 +	5 –		7 –		7 –		7 –		7 –		7–
	2	+	+	–	–	+	13 +	23 –	10+	16 –	3 +	33–	3 +	33–	1 +	35–	1 +	35–	2 +	34–	7 +	29–	3 +	33–		36–		36–
	3	+	+	–	+	+	1 +	1 –		2 –		2–		2–		2–		2–		2–		2–		2–		2–		2–
	Brucella suis																											
III	1	+	+	+	+	–	12 +	12 –	21 +	3 -	16 +	8 –	1 +	23 –	8 +	16 –	4+	20–	1 +	23–	1 +	23–	2 +	24–	1+	23–	1 +	23–
	2	+	+	+	+	+	2 +	5–	7+		2+	5 –	1+	6–	2 +	5–		7–		7–		7–		7 –		7–		7–
	3	+	+	–	+	–	3 +	11 –	4+	10–	3+	11 –	2+	12 –	3+	11 –		14 –		14 –		14 –	1 +	13 –		14 –		14–
	4	+	–	–	+	–		2 –	1+	1 –	1+	1 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2–		2–
	5	+	+	–	+	+		2 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2 –		2–		2–

In Tabelle 4 sind die biochemischen u. serologischen Eigenschaften der geprüften Brucella-Stämme u. ihre Empfindlichkeit gegen die Phagenwirkung aufgeführt.

V. Herkunft der Stämme und Phagenempfindlichkeit

Von den 44 geprüften Brucella-abortus-Stämmen war bei 28 Stämmen die Herkunft bekannt. Es war festzustellen, ob die Herkunft dieser Stämme die Phagenwirkung beeinflußte. 21 waren aus Rindern isoliert worden. 11 von diesen waren für die Wirkung sämtlicher 11 Phagen empfindlich. 4 andere Stämme verhielten sich nur gegen den Phagen 3 resistent. 3 Stämme blieben gegen die Wirkung der Phagen 3 und 6 unempfindlich. Einen anderen dieser aus Rindern gezüchteten Stämme griffen die Phagen 371, 3 und 6 nicht an. Für die Wirksamkeit der Phagen 3, 6 und 45 blieb ein Stamm unempfindlich. Gegen die Wirkung der Phagen Tb, 3,6,45 und 7 blieb der letzte der bovinen Stämme resistent.

Die drei aus Menschen gezüchteten Stämme zeigten folgendes Bild: der erste Stamm wurde von allen 11 Phagen lysiert, der zweite blieb gegen die Wirkung des Phagen 3 unempfindlich. Der letzte wurde von keinem der polnischen Phagen angegriffen, nur von F1 und F25. Je ein Stamm wurde aus einem Hund, einem Schaf und einer Ziege isoliert. Alle drei Stämme wurden von sämtlichen Phagen angegriffen. Ein weiterer Stamm wurde von einem Nerz isoliert. Er blieb nur gegen den Phagen 3 resistent.

Da der größte Teil dieser Stämme auf die Phagentätigkeit recht gut ansprach und eine Resistenz meist nur gegen die allgemein schwach wirkenden Phagen 3 und 6 vorlag, kann man annehmen, daß die Herkunft keinen Einfluß auf die Phagenempfindlichkeit der Stämme hatte.

Von 36 Brucella-melitensis-Stämmen war die Herkunft bekannt. 22 stammten von Menschen. Davon waren 9 gegen die Wirkung sämtlicher Phagen resistent. 6 andere von diesen aus Menschen isolierten Brucella-melitensis-Stämmen waren gegen die Phagen F1 und F25 empfindlich, 4 weitere wurden nur von F1 angegriffen. Bei einem der aus Menschen isolierten Stämme wirkten die polnischen Phagen 371, 212 und 24. Ähnlich verhielt sich der vorletzte dieser

Stämme; er wurde von 371,212 und Tb angegriffen. Der letzte aus einem Menschen isolierte Stamm zeigte sich für die Phagen F1,F25 und 212 empfindlich.

8 der Brucella-melitensis-Stämme wurden aus Rindern isoliert. 7 von ihnen waren völlig phagenresistent, einer wurde von den polnischen Phagen 45 und 7 angegriffen. Von den 4 aus Schafen stammenden Stämmen war einer völlig unempfindlich gegen die Phagentätigkeit. 2 wurden von F1 und F25 angegriffen und einer nur von F1.

Ein Brucella-melitensis-Stamm war aus einer Ziege isoliert worden. Er war gegen die Phagen Tb und 1o empfindlich. Der aus einem Hasen gezüchtete Stamm zeigte sich für die Phagen 24, F1 und F25 empfindlich. Da die Brucella-melitensis-Stämme im allgemeinen sehr wenig empfindlich für Phagenwirkung waren, läßt sich sagen, daß keine Unterschiede der Phagenempfindlichkeit zwischen den aus verschiedenen Organismen isolierten Brucella-melitensis-Stämmen festgestellt wurden. Allerdings waren von 8 aus Rindern isolierten Stämmen 7 völlig phagenresistent. Dabei ist zu beachten, daß 8 Stämme eine zu geringe Menge sind, um zu behaupten, daß die meisten aus Rindern isolierten Brucella-melitensis-Stämme phagenresistent seien. Von 38 Brucella-suis-Stämmen war die Herkunft bekannt. 21 dieser Stämme waren aus Schweinen isoliert worden. Über ihre Phagenempfindlichkeit ist folgendes zu bemerken: 6 dieser Stämme waren gegen alle Phagen resistent. 5 wurden nur von F25 angegriffen, 2 andere wurden außer von F25 noch vom Phagen F1 lysiert. Bei 2 weiteren dieser Stämme griffen die Phagen 371 und F25 an. Einer der aus Schweinen gezüchteten Stämme wurde von den beiden Phagen F25 und Tb lysiert. Bei 2 dieser aus Schweinen gezüchteten Stämme griffen die Phagen F1, F25 und 371 an, ein anderer wurde außer von den eben erwähnten 3 Phagen noch vom Phagen Tb lysiert. 2 der 17 aus Schweinen stammenden Brucella- suis-Stämme wurden von je sechs Phagen lysiert und zwar der eine von den Phagen 371,212,Tb, 24,F1 und F25,und der andere von den Phagen 371, Tb,1o, 24, F1 und F25.

Die 4 aus Hasen isolierten Stämme verhielten sich gegen alle Phagen resistent. Aus Menschen waren 6 der geprüften Brucella-suis-Stämme isoliert worden. 3 von ihnen waren gegen die Wirkung aller Phagen unempf indlich. 3 andere wurden von den Phagen 371,Tb und F25 gelöst, einer von diesen eben erwähnten 3 Stämmen außerdem noch von F1.

Die 7 aus Rindern gezüchteten Stämme wiesen in ihrer Phagenempfindlichkeit große Unterschiede auf. Der eine Stamm war für die Wirkung aller Phagen stark empfindlich, während ein anderer nur vom Phagen F25 angegriffen wurde. Die übrigen 5 der von Rindern stammenden Stämme verhielten sich folgendermaßen: 371, 212, Tb,F1 und F25 waren bei einem der Stämme wirksam. Ein anderer dieser Stämme wurde vom 371, 1o,F1 und F25 lysiert. Die Phagen 371,212 und F25 griffen dem nächsten dieser Stämme an. Für die Wirkung der Phagen 371,Tb, F1 und F25 war ebenfalls ein Stamm empfindlich. Den letzten aus einem Rind isolierten Stamm griffen die Phagen Tb und F25 an.

Die Brucella-suis-Stämme, deren Herkunft bekannt war, zeigten innerhalb der von den gleichen Tierarten oder vom Menschen isolierten Stammgruppen mehr oder weniger große Unterschiede in der Empfindlichkeit für die Phagentätigkeit. Lediglich die 4 aus Hasen gezüchteten Stämme verhielten sich gleich. Diese kleine Gruppe, sich gleich verhaltender Stämme, läßt die Behauptung nicht zu, alle Brucella-suis-Stämme, die aus Hasen isoliert wurden, seien phagenresistent.

Der Nachweis, daß bei Brucella-suis-Stämmen Beziehungen zwischen Herkunft und Phagensensibilität bestehen, war also nicht zweifelsfrei zu führen.

VI. Eigenschaften und Phagenempfindlichkeit von einigen mit den üblichen Methoden nicht differenzierbaren Brucella-Stämmen.

Die biochemischen Eigenschaften und das serologische Verhalten von 11 mit den üblichen Methoden bisher nicht typisierbaren Stämmen wurden im Hinblick auf ihre Phagenempfindlichkeit betrachtet. Sie sind in den Tabellen 5 und 6 dargestellt. Diese Stämme lagen in der S-Form vor.

Durch die Prüfung dieser Stämme mit den 11 Brucellaphagen F1,F25, 371,212,Tb,1o,45,7,3,6 und 24 sollte festgestellt werden, ob die Wirkung der verschiedenen Phagen eine Differenzierung der Stämme ermöglicht.

Die Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die Eigenschaften und Phagenempfindlichkeit der Stämme 1o6,114,82,69 und 8. Die Stämme 1o6,114 und 82 wuchsen auf Thionin-und Fuchsinagar, bildeten H_2S und agglutinierten in Abortusserum. Der Agargeltest war bei ihnen negativ. Die Phagenwirkung bei den Stämmen 1o6 und 114 war recht gut, wurde doch Stamm 114 von allen Phagen und Stamm 1o6 von 1o Phagen angegriffen. Bei ihm wirkte Phage 3 nicht. Der Stamm 82 wuchs auf Thioninagar gut, auf Fuchsinagar etwas schwächer. Er bildete H_2S und agglutinierte in Abortusserum. Seine Phagenempfindlichkeit war wenig ausgeprägt. Die I-Form des Stammes 114 war phagenresistent. Der Stamm 69, der auf Thionin-und Fuchsinagar wuchs und in Abortusserum agglutinierte, bildete kein H_2S. Der Agargeltest war bei ihm negativ. Er wurde, außer vom Phagen 3, von den übrigen Phagen gut lysiert.

Der Stamm 8, der ebenfalls auf Fuchsin-und Thioninagar wuchs, durch Abortus-Serum, außerdem aber noch durch Melitensis-Serum agglutinierte, war für die Wirkung von den Phagen F1 und F25 empfindlich. Der Phage 24 griff ihn nur bis zur Verdünnung $1o^{-1}$ schwach an.

Wenn man davon ausgeht, daß die Phagen F1 und F25 alle Brucella-abortus-Stämme angreifen, die Wirkung der polnischen Phagen dagegen bei ihnen ziemlich unregelmäßig ist, könnte man diese Stämme - (siehe Abschnitt III) mit Ausnahme von Stamm 114 - vielleicht zum Typ Brucella abortus zählen; die biochemischen und serologischen Eigenschaften sprechen nicht dagegen.
In der Tabelle 6 sind die Stämme 66,89,9,24,72,74 vermerkt.
Der Stamm 66 wuchs auf Thionin-und Fuchsinagar, agglutinierte in Abortus Serum und bildete ziemlich stark H_2S. Der Agargeltest war bei ihm negativ. Die Phagen 371 und F25 griffen ihn an, wobei zu bemerken ist, daß 371 nur bis zur Verdünnung $1o^{-2}$ wirkte, F25 dagegen bis zur Verdünnung $1o^{-5}$. Auf Grund der starken H_2S-Bildung und der Wirksamkeit des Phagen F25 könnte man ihn vielleicht zum Typ Brucella suis rechnen.
Der Stamm 89 wuchs auf Thioninagar etwas schwächer als auf Fuchsinagar. Seine H_2S-Bildung war ebenfalls schwach, der Agargeltest negativ. Er agglutinierte in Abortus-Serum stärker als in Melitensis-Serum. Er war nur für den Phagen F1 bis zur Verdünnung $1o^{-2}$ empfindlich. Bei ihm ist eine Typisierung nach den eben beschriebenen Tatsachen schwierig. Gegen eine Bestimmung als Brucella melitensis spricht die stärkere Agglutination in Abortus-Serum als in Melitensis-Serum.
Der Stamm 9 zeigte gutes Wachstum auf Thionin-und Fuchsinagar, Agglutination in Abortus-und Melitensis-Serum, wobei die Agglutination im Abortus-Serum stärker war als die im Melitensis-Serum. Der Agargeltest und die H_2S-Bildung waren negativ. Die Phagen F25 und 24 griffen ihn bis zur Verdünnung $1o^{-2}$ an. F1 wirkte bei ihm bis zur Verdünnung $1o^{-1}$.
Diesen Stamm könnte man vielleicht zu den Brucella-abortus-Stämmen zählen, da er von den Phagen F1 und F25 angegriffen wurde und seine

Agglutination in Brucella-abortus-Serum stärker war als die in Brucella-melitensis-Serum.
Der Stamm 24 wuchs auf Thionin-und Fuchsinagar und agglutinierte in Abortusserum. Er war nicht auf H_2S-Bildung geprüft worden; der Agargeltest war positiv. Der Stamm war nur für den Phagen F25 bis zur Verdünnung 10^{-3} empfindlich. Seine Phagenempfindlichkeit war zu wenig ausgeprägt, um sie mit den anderen Eigenschaften des Stammes 24 zur Typisierung zu verwenden.
Der Stamm 72 war für die elf Phagen unempfindlich.
Die Stämme 72 und 74 wuchsen auf Fuchsin-und Thioninagar, agglutinierten in Abortus-Serum, hatten einen negativen Agargeltest und bildeten kein H_2S. Stamm 74 agglutinierte außerdem in Melitensis-Serum genau so wie in Abortus-Serum und war für die Phagen 371 und Tb schwach empfindlich. Die Merkmale beider Stämme ließen eine Typisierung nicht zu.

106

Phage	0	10^{1}	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}
371	4	4	4	3	2	2	2
212	4	4	3	2	1	1	1
TB	4	2	1	1	1	1	1
10	4	4	4	3	3	2	2
3	–	–	–	–	–	–	–
6	3	1	1	1	–	–	–
45	4	4	4	3	1	1	1
7	2	1	1	1	–	–	–
24	(4)	(3)	(2)	(2)	(1)	(1)	(1)
F1	4	4	4	3	2	2	1
F25	4	4	3	2	2	–	–

Herkunft: Schwein
Fuchsin + Thionin + H_2S +

Agglutination
Abortus 1:80 Melit. —
Agargeltest —

114

Phage	0	10^{1}	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}
371	4	4	3	2	1	–	–
212	4	3	2	2	1	1	1
TB	4	3	2	1	1	–	–
10	4	4	4	3	3	2	1
3	(1)	–	–	–	–	–	–
6	(2)	(1)	(1)	(1)	–	–	–
45	4	3	2	2	1	1	1
7	3	2	1	–	–	–	–
24	(3)	(2)	(2)	(2)	(1)	(1)	(1)
F1	–	–	–	–	–	–	–
F25	–	–	–	–	–	–	–

Herkunft: Schwein
Fuchsin+ Thionin + H_2S ++

Agglutination
Abortus 1:160 Melit. —
Agargeltest —

82

Phage	0	10^{1}	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}
371	(3)	(2)	–	–	–	–	–
212	–	–	–	–	–	–	–
TB	1	1	1	–	–	–	–
10	–	–	–	–	–	–	–
3	–	–	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–	–
45	–	–	–	–	–	–	–
7	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–
F1	(3)	(2)	(1)	–	–	–	–
F25	4	3	2	2	1	1	1

Thionin+ Fuchsin ± H_2S++
Tierversuch: Leberherde
Agglutination
Abortus 1:80 Melit. —
Agargeltest —

69

Phage	0	10^{1}	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}
371	3	2	2	1	1	1	1
212	4	3	2	1	1	1	1
TB	(2)	(2)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
10	(4)	(4)	(4)	(3)	(2)	(2)	(1)
3	–	–	–	–	–	–	–
6	(3)	(2)	(1)	(1)	(1)	–	–
45	4	3	2	2	1	1	1
7	3	2	1	1	1	–	–
24	4	4	3	3	2	2	1
F1	4	4	3	3	3	2	2
F25	3	2	2	1	1	1	1

Fuchsin + Thionin + H_2S –

Agglutination
Abortus 1:80 Melit.
Agargeltest —

8

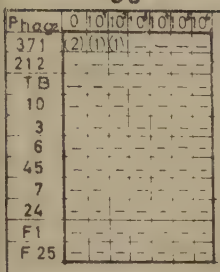
Phage	0	10^{1}	10^{2}	10^{3}	10^{4}	10^{5}	10^{6}
371	–	–	–	–	–	–	–
212	–	–	–	–	–	–	–
TB	–	–	–	–	–	–	–
10	–	1	–	–	–	–	–
3	–	–	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–	–
45	–	–	–	–	–	–	–
7	–	–	–	–	–	–	–
24	1	1	–	–	–	–	–
F1	(3)	(3)	(3)	(2)	(1)	(1)	(1)
F25	(4)	(3)	(2)	(2)	(1)	–	–

Fuchsin+ Thionin + H_2S +

Agglutination
Abortus 1:160 Melit. 1:20
Agargeltest —

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die Eigenschaften und Phagenempfindlichkeit der Stämme 106, 114, 82, 69 u. 8, die mit den gebräuchlichen Methoden bisher nicht zu differenzieren waren.

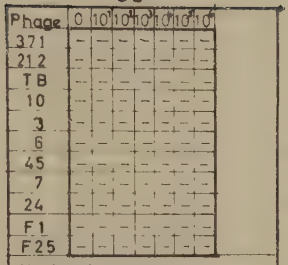
66



Thionin + Fuchsin ± H2S++

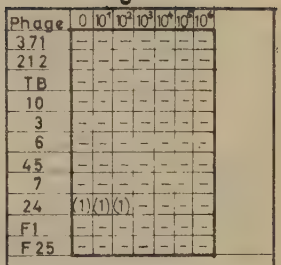
Agglutination
Abortus 1:60 Melitensis –
Agargeltest –

89



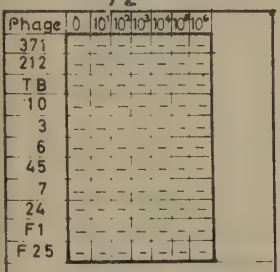
Herkunft: Mensch
Thionin (+) Fuchsin +
Tierversuch: zuhlr. mil. Leberh.
Agglutination
Abortus 1:80 Melit. 1:20
Agargeltest –

9



Thionin + Fuchsin + H2S –
Tierversuch: mil. Leber-Herde
Agglutination
Abortus 1:80 Melit. 1:20
Agargeltest –

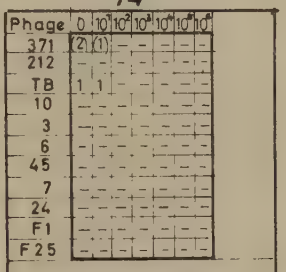
72



Thionin + Fuchsin + H2S –

Agglutination
Abortus 1:80 Melitensis –
Agargeltest –

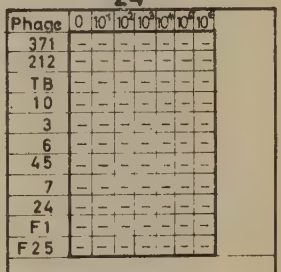
74



Thionin + Fuchsin + H2S –

Agglutination
Abortus 1:20 Melit. 1:20
Agargeltest –

24



Thionin + Fuchsin +
Tierversuch: Leber- u. Milzherde
Agglutination
Abortus 1:80 Melitensis –
Agargeltest –

Tabelle 6 zeigt die Stämme 66, 89, 9, 24, 72, 74 die mit den gebräuchlichen Methoden bisher nicht zu differenzieren waren.

J- Stamm		371	212	TB	10	6	45	7	F1	F25
Abortus	33	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	2 1 1 – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	38	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	48	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	44	– – – – – – –	– – – – – – –	1 – – –	(3) (2) (1) (1) (1) (1) –	– – – – – – –	(3) (3) (2) (2) (1) (1) –	– – – – – – –	(3) (2) (1) – – – –	(2) (1) – – – – –
	49	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – –	– – – – – – –	(3) (2) (1) (1) – – –	(4) (4) (3) (2) (1) (1) (1)	(2) (2) (1) – – – –	(2) (2) – – – – –	– – – – – – –
	50	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	136	3 3 2 2 1 1 –	2 2 1 1 – – –	(3) (2) (1) (1) – – –	(3) (2) (2) (2) (1) (1) (1)	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	2 2 1 – – – –	3 2 1 – – – –
	129	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	3 3 2 1 1 1 –	3 3 3 2 2 1 1	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	140	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	88	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	39	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	1 1 1 – – – –	4 4 4 3 2 1 1	2 1 1 1 1 1 1	3 3 2 2 1 1 1	2 2 1 1 –
Melitensis	25	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	46	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	23	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	(1) (1) – – – – –	(2) (2) (1) – – – –	(1) (1) – – – – –	(3) (2) – – – – –	(1) – – – – – –
	31	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	34	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	51	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	27	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	47	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	32	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	39	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
Suis	52	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	117	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	43	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	122	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	116	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	38	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	28	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –
	53	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –	– – – – – – –

Tabelle 7 zeigt die Phagenwirkung bei den J-Formen der Brucellastämme.

VII. Die Phagentätigkeit bei dissoziierten Brucellastämmen

a) Die Wirkung der Brucellaphagen auf I-Formen von Brucellastämmen.

Aus 11 Brucella-abortus-, 1o Brucella-melitensis-und 8 Brucella-suis-Stämmen wurden I-Formen isoliert. Es sollte geprüft werden, ob die Phagen diese Dissoziationsformen in der gleichen Weise angreifen würden wie die S-Formen.
Die Phagen 371, 212, Tb, 1o, 3,6,45,7,F1 und F25 wurden verwendet. Tabelle 7 zeigt deren Wirkung. Es stellte sich heraus, daß die I-Form des Stammes 33, dessen S-Form von den Phagen 371, 212, Tb, 1o, 6,45,7, F1 und F25 angegriffen wurde, nur vom Phagen 1o schwach lysiert wurde. Die I-Formen der Stämme 38 und 44, die in der S-Form von sämtlichen oben aufgeführten Phagen lysiert wurden, waren völlig unempfindlich. Genauso verhielt es sich bei den I-Formen der Stämme 5o, 14o und 88. Die Stämme 44,49,136,129 und 39, deren S-Formen gleichfalls von allen obenaufgeführten Phagen stark lysiert wurden, waren in den I-Formen wesentlich weniger phagenempfindlich. Die Hälfte der Phagen wirkte bei ihnen nicht mehr. Die I-Formen der Melitensisstämme waren mit einer Ausnahme alle phagenresistent. Der Stamm 23 zeigte in der I-Form eine, gegenüber seiner S-Form schwach vermehrte Phagensensibilität. Seine S-Form wurde von den Phagen F1 und F25 angegriffen, außerdem war bei ihr der Phage 212 schwach wirksam. Dieser griff die I-Form vom Stamm 23 nicht mehr an; dafür waren jetzt die Phagen 6, 45 und 7 außer F1 und F25 wirksam. Die I-Formen der Brucella-suis-Stämme waren alle phagenresistent geworden.
In der Tabelle 8 sind die I-, R- und S-Formen der einzelnen Stämme noch einmal eingetragen worden, um die Ergebnisse der Teste besser vergleichen zu können.

STAMM		371			212			TB			10			3			6			7			45			F1			F25		
BRUCELLA		S	J	R	S	J	R	S	J	R	S	J	R	S	J	R	S	J	R	S	J	R	S	J	R	S	J	R	S	J	R
Abortus	33	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	38	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	48	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	44	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
	49	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
	50	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	136	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	129	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	140	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	88	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	39	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
Melitensis	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	46	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	23	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-
	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
	34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
	51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Suis	52	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
	117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
	122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	36	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
	53	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-

Die Tabelle 8 zeigt die Phagenwirkung bei S-, J- und R-Formen der Brucella-Abortus Melitensis- u. Suis-Stämme

Der Übersichtlichkeit wegen, wurde nur zwischen Phagenwirkung (+) und keiner Phagenwirkung (-) unterschieden. Aus den Ergebnissen geht hervor, daß die Brucella-abortus-Stämme in der I-Form ihre Phagenempfindlichkeit abschwächten oder verloren, die Brucella-melitensis-Stämme fast alle phagenresistent wurden, und die I-Formen der Brucella-suis-Stämme alle gegen die Phagenwirkung unempfindlich waren.

b) Die Wirkung der Brucellaphagen auf R-Formen von Brucellastämmen.

Bei den R-Formen war ohne Unterschied des Typs keine Phagenwirkung vorhanden.

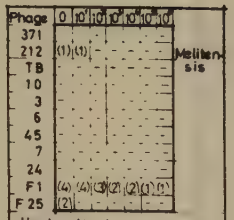
VIII. Untersuchung einiger Brucellastämme auf ihre epidemiologische Bedeutung für eine Instituts-infektion einzelner Institutsangehöriger

Inwieweit die Lysotypie über epidemiologische Zusammenhänge Aufklärung geben kann, wurde auf Grund einer Hausinfektion bei der kurz nacheinander 7 Personen an Brucellose erkrankten, im bescheidenem Umfang zu prüfen versucht. Die örtlichen Gegebenheiten sprachen dafür, daß die Infektionen von den Stämmen 132 suis und 23 melitensis verursacht worden waren. Es gelang aus dem Blute der Erkrankten 7 Stämme (Nr.45, Nr,141, Nr.145, Nr.149, Nr. 146, Nr. 148 und Nr. 151) zu züchten. Diese Stämme wurden mit den Phagen F1, F25, 371, 212,Tb,1o,45,7,24, 3 und 6 geprüft, nachdem ihre Thionin-und Fuchsin-Resistenz, ihre H_2S-Bildung und ihre Agglutination in monospezifischen Seren festgestellt worden waren. Außerdem wurde der Agargeltest bei ihnen vorgenommen. Für diesen Test wurde Brucella-abortus-Serum 544 benutzt. Mit diesem Serum reagierten Brucella-melitensis-Stämme positiv. Bei Brucella-abortus-Stämmen war die Reaktion schwach oder blieb aus. Stämme vom Typ Brucella suis zeigten beim Agargeltest mit dem Brucella-abortus-Serum 544 keine Reaktion.

Von den Stämmen Nr.23, Nr. 132, Nr. 146 und Nr. 148 war außerdem das Verhalten im Tierversuch bekannt. Dabei stellte sich heraus, daß die Stämme 146 und 148 zum Typ Brucella suis gehörten, die Stämme Nr. 45, Nr.141, Nr.145, Nr. 149 und Nr. 151 wiesen sich als Brucella melitensis aus. Die tabellarische Darstellung gibt einen Überblick über die biochemischen und serologischen Eigenheiten und die Phagenbilder dieser Stämme. Der darin mit verzeichnete Stamm Nr. 135 wurde später zu den Erkrankungen in Beziehung gebracht.

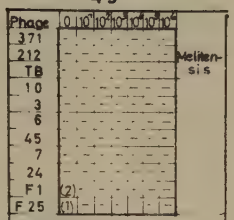
Es wird deutlich, daß sich der Laborstamm 132 suis und die aus Patientenblut gezüchteten Stämme Nr. 146 suis und 148 suis in

23



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S +
Tierversuch: Leberherde
Agglutination
Abortus –
Melitensis 1 : 160
Agargeltest + + 1

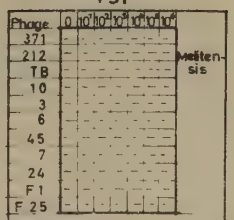
45



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin H2S +

Agglutination
Abortus –
Melitensis 1 : 40
Agargeltest + + + 1

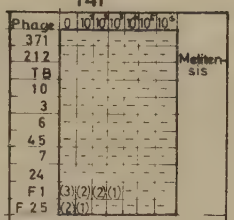
151



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –

Agglutination
Abortus –
Melitensis 1 : 60
Agargeltest + 1

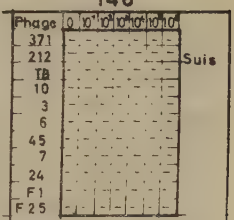
141



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –

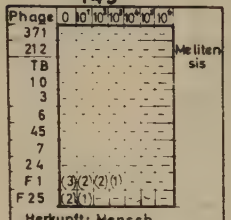
Agglutination
Abortus –
Melitensis 1 : 40
Agargeltest + 2

148



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –
Tierversuch: Leberherde
Agglutination
Abortus (1 : 160)
Melitensis 1 : 10
Agargeltest –

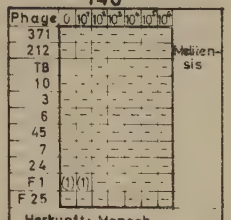
145



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –

Agglutination
Abortus –
Melitensis 1 : 80
Agargeltest + + 1

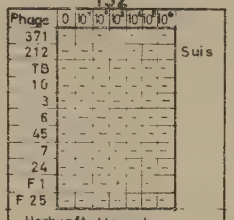
140



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –

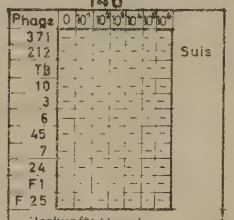
Agglutination
Abortus –
Melitensis 1 : 80
Agargeltest + 1

132



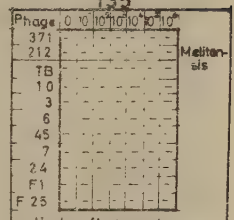
Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –
Tierversuch: Milzherde
Agglutination
Abortus (1 : 80)
Melitensis 1 : 10
Agargeltest –

146



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –
Tierversuch: Leberherde
Agglutination
Abortus (1 : 80)
Melitensis –
Agargeltest –

135



Herkunft: Mensch
Thionin + Fuchsin + H2S –

Agglutination
Abortus –
Melitensis 1 : 60
Agargeltest + 1

In dieser Übersicht sind die Eigenschaften u. die Phagenempfindlichkeit der bei der Hausinfektion vermuteten Ursprungsstamme u. die Eigenschaften u. Phagenempfindlichkeit der aus dem Blute von den Erkrankten isolierten Stamme eingetragen

mancher Hinsicht ähnlich verhielten. Sie wuchsen alle drei auf Thionin-und Fuchsinagar und agglutinierten in Abortus-Serum. Laborstamm 132 und Stamm 148 wurden außerdem noch schwach vom Melitensis-Serum agglutiniert. Der Agargeltest war mit Abortus-Serum 544 negativ. H_2S bildeten alle drei Stämme nicht.
Die völlige Phagenresistenz dieser drei Stämme könnte als ein Beweis ihrer engen Beziehungen zueinander gewertet werden.
Der Laborstamm Nr.23 melitensis wurde bei den Stämmen Nr.45, Nr.141, Nr.145, Nr.149 und Nr. 151 als Ursprung angenommen. Er hatte mit dem Stamm 132 suis und damit auch mit den beiden aus Patientenblut gezüchteten Stämmen Nr.146 und Nr.148 keine Ähnlichkeit.
Der Laborstamm Nr.23 melitensis wuchs auf Thionin-und Fuchsinagar und agglutinierte nur in Melitensis-Serum. Er bildete H_2S. Der Agargeltest mit Abortus-Serum 544 war bei ihm positiv. Der Phage F1 griff ihn mit opaker Lyse bis zur Verdünnung 10^{-6} an. Der Phage F25 wirkte bei ihm nur unverdünnt. Eine schwache Empfindlichkeit bestand außerdem noch für den Phagen 212.
Der Stamm Nr.45 melitensis, von dem angenommen wurde, er könne auf den Laborstamm 23 melitensis zurückzuführen sein, zeigte zwar auf Thionin-und Fuchsinagar gutes Wachstum, bildete aber kein H_2S. Er agglutinierte in Melitensis-Serum und verhielt sich beim Agargeltest mit dem Brucella-abortus-Serum 544 positiv. Die Phagen F1 und F25 griffen den Stamm Nr.45 unverdünnt gering an. Die fehlende H_2S-Bildung und die schwache Phagenempfindlichkeit machen es unwahrscheinlich, daß er mit dem Laborstamm Nr.23 melitensis in Zusammenhang steht.
Der Stamm Nr.149 melitensis, der ebenfalls auf den Laborstamm Nr.23 melitensis zurückgehen sollte, hatte folgende Merkmale: er wuchs auf Thionin-und Fuchsinagar und agglutinierte in Melitensis-Serum. Der Agargeltest mit dem Brucella-abortus-Serum 544 war bei ihm positiv. Seine Empfindlichkeit gegen Phagen war wenig ausgeprägt. Der Phage

F1 griff ihn bis zur Verdünnung 10^{-1} schwach an. Diese geringe Empfindlichkeit für den Phagen F1 und die fehlende H_2S-Bildung machen es unwahrscheinlich, daß der Stamm Nr.149 melitensis mit dem Laborstamm Nr.23 melitensis in Beziehung gebracht werden kann.

Die beiden aus Patientenblut gezüchteten Stämme Nr.141 melitensis und Nr.145 melitensis stimmten in ihren Eigenschaften und in ihrer Phagenempfindlichkeit völlig überein. Sie wuchsen auf Thionin- und Fuchsinagar und agglutinierten in Melitensis-Serum. Der Agargeltest mit dem Brucella-abortus-Serum 544 war bei beiden stark positiv, die H_2S-Bildung blieb aus. Vom Phagen F1 wurden sie bis zur Verdünnung 10^{-3} und vom Phagen F25 bis zur Verdünnung 10^{-1} angegriffen. Ob beide Stämme mit dem Stamm Nr.23 melitensis etwas zu tun haben oder nicht, erscheint zweifelhaft, da bei ihnen die H_2S-Bildung fehlt. Miteinander sind sie wahrscheinlich verwandt.

Der letzte aus einem Patienten gezüchtete Stamm Nr.151 melitensis verhielt sich wie der Stamm 45. Er wuchs auf Thionin-und Fuchsinagar, agglutinierte in Melitensis-Serum und war beim Agargeltest mit dem Brucella-abortus-Serum 544 positiv. H_2S bildete er nicht und wurde von keinem der elf Phagen angegriffen. Seine Phagenresistenz spricht gegen die Verwandtschaft mit dem Stamm Nr.45 melitensis. Eine Beziehung zu dem Laborstamm Nr.23 melitensis, dessen Eigenschaften und Phagenempfindlichkeit oben beschrieben wurden, läßt sich ebenfalls nicht annehmen, weil dieser eine schwache Phagenempfindlichkeit zeigte.

Es könnte aber möglich sein, daß der Stamm Nr.151 melitensis von dem Stamm 135 melitensis herzuleiten ist. Dieser Stamm wurde im Labor gehalten und war in einem anderen Institut aus Menschenblut gezüchtet worden. Er wuchs auf Thionin-und Fuchsinagar. Der Agargeltest mit Melitensis-Serum war positiv, H_2S bildete der Stamm nicht. Gegen sämtliche elf Phagen zeigte er sich resistent. Wenn

man die Phagenresistenz der Stämme Nr.151 und Nr. 135 als Beweis für eine Verwandtschaft der beiden Stämme ansehen will, könnte man den Stamm Nr.135 für den Ausgangsstamm des aus Patientenblut gezüchteten Stamm 151 ansehen.

Da Brucella-melitensis-Stämme im allgemeinen sehr schlecht von Phagen angegriffen werden, ist es nicht ratsam, aus der Phagenresistenz mehrerer Stämme epidemiologische Zusammenhänge abzuleiten. Dies auch deshalb, weil nicht erwiesen ist, daß die sieben aus Erkrankten gezüchteten Stämme Nr.45, Nr.141, Nr.145, Nr. 149, Nr.146, Nr.148 und Nr.151 bei einer Passage durch den menschlichen Organismus ihre Phagenempfindlichkeit nicht geändert haben können.

D. Besprechung der Versuchsergebnisse

Die Empfindlichkeit gegen die Phagenwirkung war bei den Brucella-abortus-Stämmen am stärksten ausgeprägt. Diese Beobachtung stimmte mit den Feststellungen von Wundt (52) überein, dessen Sammlungsstämme vom Typ Brucella abortus von acht Phagen angegriffen wurden. Auch die von Parnas (4o,28,29,39) isolierten Phagenstämme richteten ihre Aktivität hauptsächlich gegen Brucella-abortus-Stämme. Die Prüfung von polnischen, russischen und südafrikanischen Phagen mit Standardstämmen, die von Parnas, Burdzy und Munter (39) vorgenommen wurde, ergab, daß nur der Brucella-abortus-Stamm Nr.12 stark lysiert wurde. Die Phagenwirkung bei den Brucella-melitensis-Stämmen war sehr gering. Von den 45 zur Prüfung mit Phagen verwendeten Brucella-melitensis-Stämmen, waren nur 21 gegen Phagenwirkung empfindlich. Diese allgemein wenig ausgeprägte Empfindlichkeit der Brucella-melitensis-Stämme gegen die Wirkung von Brucellaphagen bestätigen die Versuche von Parnas und Burdzy (37). Die Autoren hatten bei der Prüfung von 213 Brucella-melitensis-Stämmen aus verschiedenen Ländern mit 1o Phagen nur bei 69 Stämmen eine Phagenlyse bemerken können. Unterschiedliche Ergebnisse erzielten Wundt (52) und Parnas (34) bei der Prüfung von Brucella-melitensis-Stämmen mit Phagen. Gegenüber den Feststellungen von Drozewkina (7), Brinlay-Morgan, Kay und Bradlay (3), Parnas (34), Parnas, Feltynowsky und Bulikowski (4o) und Wundt (52), die die Brucella-suis-Stämme als sehr phagenresistent beschrieben, erwiesen sich die 49 Brucella-suis-Stämme des Max-von-Pettenkofer-Institutes als verhältnismäßig phagensensibel. 33 von ihnen wurden zumindest von einem der 11 Phagen angegriffen.

Von den 11 zur Prüfung benutzten Phagen zeigte keiner Polyvalenz. Der Phage Tb besaß nach D r o z e w k i n a (7) eine Spezifität für Brucella-abortus-Stämme. Das Gleiche stellte das Expertenkomitee der World Health Organization (5o) fest. Bei Versuchen, die P a r n a s (4o,28,29,34) mit dem Phagen durchführte, lysierte er mit wenigen Ausnahmen alle Brucella-abortus-Stämme. Mit diesen Angaben stimmen die von mir erzielten Ergebnisse weitgehend überein: Phage Tb lysierte 95,4% der 44 geprüften Brucella-abortus-Stämme. Von den 45 geprüften Brucella-melitensis-Stämmen wurden nur 4,4% von diesem Phagen angegriffen.

Die Ergebnisse von D r o z e w k i n a (7) weichen insoweit von den meinigen ab, als sie berichtete, daß der Phage Tb 77% der von D i m i t r i u , C e r b u und V a s i l e s c o geprüften Brucella-melitensis-Stämme angriff.

Die von W u n d t (52) zur Prüfung seiner Sammlungsstämme benutzten Phagen 371, 371 XXX, 24, 24 II, 212, 212 XV, 1o und 1o I griffen alle Brucella-abortus-Stämme an. Bei uns dagegen zeigten die Phagen 371 und 212 ihre Wirksamkeit bei 95,4% der geprüften Brucella-abortus-Stämme. Phage 1o griff ebenfalls 95% der Brucella-abortus-Stämme an und Phage 24 88,6%.

Anders als nach den Angaben von S t i n e b r i n g und B r a u n (48) B r i n l a y - M o r g a n , K a y und B r a d l a y (3) und M e y e r (21) verhielt sich der Phage 3. Nach den eben genannten Angaben sollte der Phage 3 bei Brucella-abortus-Stämmen stark wirksam sein. Bei meinen Versuchen dagegen, griff er nur 3o% der geprüften Brucella-abortus-Stämme schwach an. Bei 2,8% der geprüften Brucella-suis-Stämmen war er ebenfalls schwach wirksam.

In der Tabelle 9 sind noch einmal die Prozentzahlen der von den einzelnen Phagen angegriffenen Stämme zusammengestellt.

Tabelle 9

Typ	Phage	371	212	Tb	1o	3	6	45	7	F1	F25	24
abortus		95,4	95,4	95,4	95,4o	5o,4o	77,2	88,6	88,6	1oo	1oo	88,6
melitens.		6,6	8,8	4,4	6,6	o	o	4,4	2,2	37,7	21,7	6,6
suis		42,o	6,2	27,3	8,3	2,8	2,8	2,8	2,8	33,3	67,3	6,2

Hierbei zeigt sich, daß die Phagen F1 und F25 von allen 11 geprüften Phagem am wirksamsten waren. Sie griffen alle Brucella-abortus-Stämme an. Auch bei Brucella-melitensis und Brucella_suis liegen die Zahlen wesentlich über dem Prozentsatz der anderen Phagen. Eine Ausnahme machen die Phagen 371 und Tb, welche Brucella_suis immerhin mit 42.o bzw. 27,3% lysierten.

Da die Wirkung der einzelnen Phagen mit Ausnahme von F1 und F25 so unterschiedlich war, wurde untersucht, ob die Herkunft der Stämme und ihre biochemischen Eigenschaften in Verbindung mit der Phagensensibilität stehen könnten. Die im Abschnitt IV des Kapitels C beschriebene Gruppeneinteilung der Stämme führte jedoch zu keinem eindeutigen Ergebnis. In der Literatur waren darüber keine Angaben zu finden.

Bei der Untersuchung der Stämme auf ihre Herkunft und die Phagenempfindlichkeit stellte es sich heraus, daß die Brucella-abortus-Stämme, deren Herkunft bekannt war, ohne Unterschied phagenempfindlich waren. Entgegen der Feststellung von P a r n a s und B u r d z y (37), daß Brucella-melitensis-Stämme, die aus Menschen, Schafen oder Ziegen isoliert wurden, phagenresistent seien, zeigten sich bei meinen Versuchen nur 9 von 22 aus Menschen isolierten Brucella-melitensis-Stämmen phagenresistent. Von den 4 aus Schafen gezüchteten Stämmen war nur einer phagenresistent. Von 8 aus Rindern isolierten Brucella-melitensis-Stämmen waren 7 unempfindlich gegen die Phagen. P a r n a s und B u r d z y (37) stellten fest, daß die von ihnen geprüften, aus Rindern isolierten Brucella-melitensis-Stämme phagensensibel waren.

Die aus verschiedenen Tierarten gezüchteten Brucella-suis-Stämme zeigten innerhalb der einzelnen Gruppen große Unterschiede in der Empfindlichkeit gegen die Phagenwirkung. Lediglich 4 aus Hasen gezüchtete Stämme verhielten sich gleichmäßig - sie waren phagenresistent. Diese kleine Gruppe reicht nicht aus, zu behaupten, daß Brucella-suis-Stämme die aus Hasen isoliert wurden, phagenresistent sind.

Es ließen sich bei allen drei Brucellatypen keine Beziehungen zwischen Herkunft und Phagenempfindlichkeit feststellen.

Obwohl von L a z u g a und R e n o u x (18), L a z u g a (17) eine Typisierung der Brucellen mittels Phagen für möglich gehalten wird, kann man bei Betrachtung der erzielten Ergebnisse nicht sagen, daß eine Typisierung der Brucellen ausschließlich mittels Phagen möglich ist. Man könnte höchstens mit einer größeren Anzahl von Phagen Brucella-abortus-Stämme wegen ihrer starken Phagensensibilität gegenüber den anderen beiden Typen abgrenzen.

Als Ergänzung der üblichen Differenzierungsmethoden wurde die

Prüfung der fraglichen Stämme mit Phagen von verschiedenen Autoren vorgeschlagen. M e y e r und M o r g a n (23) hielten den Phagen 3 für geeignet, das Expertenkomitee der World Health Organization schlug den Phagen Tb vor.
Im International Bulletin of Bacteriology Vol.13, Nr. 3 (47) wurde ebenfalls der Phage Tb zur Ergänzung der üblichen Typisierungsmethoden empfohlen, allerdings mit der Einschränkung, daß man mit ihm nur Brucella-abortus-Stämme abgrenzen könne. Nach der festgestellten schwachen Wirkung des Phagen 3 erscheint dieser aber nicht verwendbar. Der Phage Tb war zwar bei 95,4% der Brucella-abortus-Stämme wirksam, aber die Phagen F1 und F25 griffen alle Brucella-abortus-Stämme an und erwiesen sich deshalb zur Ergänzung der üblichen Differenzierungsmethoden als die geeignetesten. U l b r i c h und W e i n h o l d (49) hatten diese Phagen für die Typenbestimmung besonders herangezogen. P a r n a s (28,31,33) verwendete eigene Phagen zur Unterstützung gebräuchlicher Methoden, ebenso van D r i m m e l e n (4,5) und J o n e s (13).
Im Abschnitt VI des Kapitels C wurde versucht aus den Phagenbildern von 11 Brucellastämmen, die sich nach Prüfung ihrer H_2S-Bildung, Bestimmung der Thionin-und Fuchsin-Resistenz und der Agglutination in monospezifischen Seren nicht eindeutig einem der drei Brucella-Typen zuordnen ließen, die Stammart abzuleiten. Bei 8 von diesen Stämmen scheint die Typisierung gelungen, wenn man den Phagentest ergänzend benutzt. Die restlichen drei Stämme dieser Gruppe konnten nicht bestimmt werden. Wie die Versuche von J o n e s, Mc D u f f und W i l s o n (14) zeigten, wurden L-Formen in wesentlich geringerem Maße von Phagen angegriffen als S-Formen. Bei den von mir durchgeführten Untersuchungen zeigten sich die L-Formen der Brucella-abortus-Stämme

wesentlich weniger phagenempfindlich als die S-Formen. Viele von ihnen hatten ihre Phagenempfindlichkeit verloren.
Die I-Formen der Brucella-melitensis-und Brucella-suis-Stämme waren bis auf eine Ausnahme phagenresistent.
Die von S t i n e b r i n g und B r a u n (48) und F a r n a s (28,29) beobachtete Phagenresistenz der R-Formen trat auch bei meinen Versuchen hervor.
Die Notwendigkeit zur Prüfung mit Phagen nur Brucellastämme der reinen S-Form zu verwenden, auf die P a r n a s und B u r d z y (35) hinwiesen, wurde durch die eigenen Versuche bestätigt.
Die Phagenbilder der bei einer Hausinfektion aus Patientenblut gezüchteten Stämme wurden miteinander verglichen um zu sehen, welche dieser Stämme in Beziehung zu einander stehen könnten. Dabei wurde vorausgesetzt, daß die Brucellastämme während der Passage durch einen Organismus ihre Phagenempfindlichkeit nicht verändern.
Darüber waren in der Literatur keine Angaben zu finden.

E. Schlußfolgerung

Die Brucellaphagen können zur Differenzierung von Brucella-Stämmen zur Ergänzung der gebräuchlichen Differenzierungsmethoden mit herangezogen werden. Dabei ist das Lysisbild von Kontrollstämmen bei jeder Differenzierung unbekannter Stämme zugrunde zu legen. Mit Stammdifferenzierungen mittels Brucellaphagen gelang es nicht, epidemiologische Zusammenhänge bei Labor-Infektionen aufzuklären.

F. Zusammenfassung

Es wurden 149 Brucella-Stämme auf ihre Empfindlichkeit gegen die Wirkung von Brucella-Phagen untersucht.
Die Brucella-abortus-Stämme zeigten die größte Phagensensibilität, sie waren alle für die Phagen F1 und F25 empfindlich. Bis auf zwei Ausnahmen wirkten bei den Brucella-abortus-Stämmen mindestens vier der polnischen Phagen 371,212,Tb, 1o und 45. Die Stämme vom Typ Brucella melitensis waren gegen die Wirkung sämtlicher Brucellaphagen am unempfindlichsten. Die Brucella-suis-Stämme standen mit ihrer Empfindlichkeit für Phagenwirkung etwa in der Mitte.
Eine regelmäßige Phagenwirkung war bei Brucella-melitensis - und Brucella-suis-Stämmen nicht festzustellen.
Ein Zusammenhang zwischen dem biochemischen Verhalten der geprüften Stämme und ihrer Empfindlichkeit für die Phagenwirkung, ließ sich nicht nachweisen. Ebenso konnte keine Beziehung zwischen der Herkunft der geprüften Stämme und der Phagenwirkung festgestellt werden.
Einige der I-Formen der Brucella-abortus-Stämme hatten im Gegensatz zu ihrer S-Form geringere Phagenempfindlichkeit; der größte Teil jedoch war gegen die Phagenwirkung resistent. Ein Brucella-melitensis-Stamm war in der I-Form für die Phagentätigkeit sensibler als in der S-Form. Die anderen I-Formen der Brucella-melitensis-Stämme, sowie die I-Formen der Brucella-suis-Stämme waren phagenresistent. Die R-Formen aller drei Typen zeigten keine Empfindlichkeit für die Phagentätigkeit.

C. Verzeichnis der Literaturhinweise

1. Braun, W.: Dissociation in Brucella abortus
J. Bact. 51 327-349 (1946)

2. Braun, W.: The effect of serum upon dissociation in Brucella abortus. A demonstration of the role of selective environments in bacterial variation.
J. Bact. 52 243-246 (1946)

3. Brinlay-Morgan, W.J., Kay, W. u. Bradlay, D.E.: Brucella bacteriophage
Nature, 188 74 (1960)

4. Drimmelen, G.C.van: Bacteriophage typing of Brucella organism
South Afric. J. Bact. 56 187-191 (1960)

5. Drimmelen, G.C.van: "Species" of Brucella characterised by phage Lysis. Bull.World Health Org.23
127-130 (1960)

6. Drimmelen, G.C.van: Bacteriophage Typing apllied to strains of Brucella organism. Nature, 184 1079 (1959)

7. Drozewkina, M.S.: The present position in Brucella phage research, a review of the literature.
Bull.World Health Org.29 43-57 (1963)

8. Gödglück, G., Ulbrich F. u. Wellmann G. : Typenbezeichnungsänderung bekannter Brucellose-Laboratoriumsstämme Zbl. Bakt.I. Orig. 161 138-145 (1954)

9. Gwatkin, H. : Search for a Brucella bacteriophage
J. Inf. Dis. 48 404-407 (1931)

10. Hassan, S.R. : A study of undulant fever in the Punjab caused by Brucella abortus (Bang)
Arch. Schiffs-Tropen-Hyg.37 121-130 (1933)

11. Huddleson, J.F.u.a.: Studies in Brucellosis III.
Michigan State College, Agricultural Exper. Station Jan.1952

12. Jablonski, L. : Variability of Brucella phages. Nature 193
703-704 (1962). Ref.: Vet.Bull.33 8 (1963)

13. Jones, L.M. : Comparison of phage typing with standard methode of species differentiation in Brucellae. Bull.World Health Org.23 130-133 (1960)

14. Jones, L.M., Mc.Duff, C.R. u. Wilson, J.B. : Phenotypie alterations in the colonial morphology of Brucella abortus due a bacteriophage Carrier State. J. Bact. 83 860-866 (1962)

15. Kessel, H.W. u. Braun, W. : Relationships between phage susceptibility and colonial phenotype of Brucella abortus. J. Bact. 81 503-504 (1961)

16. Kessel, H.W.J., Aronson M. und Braun, W. : Effects of Brucellaphage on extracellular and intracellular Brucella abortus. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 105 447-450 (1960)

17. Lazuga, K. : Nouvelles recherches sur les bacteriophages de Brucella de la collections de l'Institut Pasteur de Tunis. Arch. Inst. Pasteur Tunis 38 83-96 (1961)

18. Lazuga, K. u. Renoux, G. : Quelques essais sur les bactériophages de Brucella. Arch. Inst. Pasteur Tunis 37 447-452 (1960) Ref. Vet. Bull. 31 377 (1961)

19. Liu, I-Lin : Untersuchungen über Vorkommen von Bakteriophagen für Brucellabakterien und Sproßpilze (Monilia) Med. Diss. Hamburg 1933

20. McDuff, C.R., Jones, L.M. und Wilson, J.B. : Characteristics of Brucellaphage J. Bact. 83 324-329 (1962)

21. Meyer, M.E. : Metabolic characterisation of the genus Brucella IV. Correlation of oxidative metabolic patterns and susceptibility to Brucella bacteriophage type abortus, strain 3 J. Bact. 82 950-953 (1961)

22. Meyer, M.E. : Stoffwechsel-und Phagen-Identifikation von Brucella-Stämmen die als Brucella melitensis vom Rind beschrieben werden. Zbl. Bakt. I Ref. 183 584 (1963)

23. Meyer,M.E. u.Morgan,W.J.B.: Metabolic characterisation of Brucella strains that show conflicting identy by biochemical and serological methods.Bull.World Health Org. 26 823-827 (1962). Ref.Vet.Bull. 32 803 (1962)

24. Mitschel,R.,Newman,F. und Eisenstark,A. :Lysic agent for Brucella:phage or bacteriocin? Bact.Proc. (1959) S.46

25. Ostrovskaja, NN. :Zur Charakteristik des Brucellose-Bakteriophagen Tb (Russ.) Z. mikrobiol. 32 Nr.6 S.7o-78 (1961) Ref. Landw.Zbl.Abt.IV 7 772 (1962)

26. Ostrovskaja,NN. u.Ssolowjow,NN. :Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Phagolyse der Brucellen (Russ.).Z.mikrobiol. 31 Nr.11 S.4-1o (196o) Ref.Landw.Zbl.Abtl.IV 6 1384 (1961)

27. Parnas, J. :Brucellaphages Zbl. Bakt. I Ref. 187 3o5-344 (1963)

28. Parnas, J. :Further studies on the Brucella phage Bull. Off.internat. épizoot. 55 1738-1749 (1961)

29. Parnas, J. :Further studies on the Brucella phage Pathol.Microbiol. 24 347-356 (1961)

3o. Parnas, J. :Das Phänomen des Bakteriophagenauftretens bei den Stämmen Brucella brucei.Arch. Hyg. 145 167-183 (1961)

31. Parnas, J. :Differentiation of Brucellae by the aid of phages J.Bact. 82 319-325 (1961)

32. Parnas, J. :Etat actuel des nos recherches sur les phages anti-Brucella Arch.Inst.Pasteur Tunis 37 215-225 (1961)

33. Parnas,J. :Versuch einer Systematik und Taxonomie der Brucella Zbl.Bakt.I Orig. 188 23o-241 (1963)

34. Parnas,J. : Weitere Untersuchungen über die Anti-Brucella-Bakteriophagen
Zbl. Vet.med. 8 175-191 (1961)

35. Parnas,J. u. Burdzy,K. : Die Dissoziation der Brucella und die Brucellaphagen
Zbl.Bakt.I Orig.188 241-245 (1963)

36. Parnas,J. u. Burdzy,K. : Die Isolierung des Brucellaphagen aus dem Organismus.
Zbl.Bakt.I Orig. 188 292-296 (1963)

37. Parnas,J. u. Burdzy,K. : Types of Brucella brucei and Brucella-Phages, I. Brucella melitensis
Zbl. Vet.med.Reihe B, 10 380-393(1963)

38. Parnas,J.u.a. : Negative Kolonien der Brucellaphagen
Zbl.Bakt.I Orig. 188 283-291 (1963)

39. Parnas,J.,Burdzy,K. u.Münter, W. : Weitere Untersuchungen über die polyvalenten Brucellaphagen
Zbl.Bakt.I Orig. 188 277-282 (1963)

40. Parnas,J.,Feltynowsky,A. u.Bulikowski,W.: Anti-Brucella Phage
Nature 182 1610 (1958)

41. Parnas,J. u.Grzegorzewska-Lewandkowska,B.: Neuere Angaben über die Standardbedingungen der Züchtung von Anti-Brucella-Bakteriophagen.
Zschr.Hyg. 147 399-405 (1961)

42. Parnas,J. u. Kotlinska,E. : Weitere Studien über Stoffwechsel und Veränderlichkeit äußerst streptomycin-resistenter Stämme der Brucella brucei
Mhefte Vet.med.16 41-45 (1961)

43. Pickett u. Nelson: Brucella bacteriophage
J.Hyg. 48 500-503 (1950)

44. Sanderson, E.S.: Bacteriophage tests in meconium of aborted fetuses
J.Exper. Med. 42 561-563 (1925)

45. Sergienko, F.E., Schulz, W.M. und Natowitsch, A.L. : Der Bakteriophage zur Brucellenkultur (Russ.) Z.mikrobiol. 7 Nr.1/2, S.175-179 (1940) Ref.: Zbl.Bakt.I Ref. 140 334(1941)

46. Smith, H.W. : A search for bacteriophages active upon bacteria of the Brucella genus. J.Hyg. 47 414-415 (1949)

47. Stableforth, A.W.u. Jones, L.M. : Report of the Subcommittee on Taxonomy of the Genus Brucella, Speciation in the Genus Brucella. Internat.Bull. Bacteriol.Nomenclature Taxonomy 13, Nr. 3, S.145-158 (1963)

48. Stinebring, W.R. u. Braun, W. : Brucellaphage J.Bact. 78 736-737 (1959)

49. Ulbrich, F. u. Weinhold, E. : Brucella-Typendifferenzierung mit monospezifischen Seren und Phagen Zbl. Vet.med. 9 555-564 (1962)

50. World Health Organization : Bruc. 225 v. 11. October 1962 Speciation in the genus Brucella

51. Wundt, W. : Fehlerquellen und ihre Ausschaltung bei der Prüfung der Farbstoffresistenz der Brucellen Zbl. Bakt. I Orig. 171 166-177 (1957/58)

52. Wundt, W. : Die Prüfung der Empfindlichkeit von Brucellastämmen gegen Bakteriophagen. Zbl.Bakt.I Orig. 185 182-187 (1962)

Für die Uberlassung des Themas danke ich
Herrn Professor Dr.F. U l b r i c h
sowie für seine Unterstützung bei der Arbeit.

Herrn Professor Dr.M. Z u n k e r, dem leitenden Direktor der Veterinärabteilung, danke ich, daß er mir erlaubt hat, in seinem Institut zu arbeiten.

Bei der Einführung in die Arbeitstechnik unterstützte mich maßgeblich Herr Dr.E. W e i n h o l d, dem an dieser Stelle dankend gedacht sei.

Nach der Übersiedlung Herrn Prof. Ulbrichs nach Gießen nahm sich Herr Professor H. H a r t w i g k in sehr freundlicher und bereitwilliger Weise meiner Arbeit an. Dafür bin ich ihm sehr zu Dank verpflichtet.

Auch allen anderen Mitarbeitern der Veterinärabteilung des
Max-von-Pettenkofer-Institutes
sei für die mir stets erwiesene Hilfsbereitschaft gedankt.

Lebenslauf

Am 31.Mai 1932 wurde ich, Gudrun Steidten, als Tochter des am 29.März 1961 verstorbenen Studienrates Siegfried Steidten und seiner Ehefrau Margarete geb. Naumann in Leipzig geboren.
Von 1938 bis 1945 besuchte ich in Engelsdorf bei Leipzig die Grund-und Mittelschule.
Von 1945 bis 1951 ging ich in Leipzig zur Oberschule und bestand am 16.Juni 1951 das Abitur.
Von 1951 bis 1952 arbeitete ich im Veterinärhygiene-Institut der Universität Leipzig.
Eine Sonderausbildung zur vet.-med.techn.Assistentin schloß ich im November 1952 ab.
Von 1953 bis 1955 arbeitete ich im Labor einer Poliklinik in Leipzig. Die Anerkennung meines Reifezeugnisses erhielt ich durch eine Ergänzungsprüfung in West-Berlin im März 1955.
Von 1955 bis 1961 studierte ich an der Freien Universität in Berlin und legte am 28.Januar 1961 die Tierärztliche Prüfung ab.
Am 16.November 1961 erhielt ich die Bestallung als Tierärztin.